



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

UNIDAD DE POSTGRADO

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN ANIMAL

MENCIÓN

NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN ANIMAL

Tesis de grado presentada previa la obtención del grado académico de Magister en producción animal, mención Nutrición y Alimentación Animal

TEMA

VALORACION INVITRO FLUIDO RUMINAL Y CELULASA DE TRES SUBPRODUCTOS AGRICOLAS CONSERVADOS PARA LA ALIMENTACION DE RUMIANTES

AUTOR

Ing. Zoot. BOLÍVAR MONTENEGRO VIVAS

DIRECTOR

Ing. Zoot. ADOLFO SANCHEZ LAIÑO.M.Sc

QUEVEDO- LOS RÍOS -ECUADOR

2012

CERTIFICACIÓN

El suscrito **CERTIFICA:** Que en la tesis de Magíster en Producción Animal, Mención Nutrición y Alimentación Animal, titulada “**VALORACION INVITRO FLUIDO RUMINAL Y CELULASA DE TRES SUBPRODUCTOS AGRICOLAS CONSERVADOS PARA LA ALIMENTACION DE RUMIANTES**”, Cuya autoría es del **Ing. Zoot. BOLÍVAR MONTENEGRO VIVAS**, se han incorporado las sugerencias hechas por el Tribunal de Sustentación Privada, encontrándose el posgradista apto para la Sustentación Privada.

Quevedo, 17 de julio del 2012

Ing. Zoot. ADOLFO SANCHEZ LAIÑO, M.Sc
DIRECTOR DE TESIS

AUTORÍA

El trabajo de investigación, los resultados y conclusiones presentadas en la presente tesis de Magister en Producción Animal, Mención Nutrición y Alimentación Animal, titulada **“VALORACION INVITRO FLUIDO RUMINAL Y CELULASA DE TRES SUBPRODUCTOS AGRICOLAS CONSERVADOS PARA LA ALIMENTACION DE RUMIANTES”** Son de exclusiva responsabilidad del autor.

Ing. Zoot. BOLÍVAR MONTENEGRO VIVAS

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece por su colaboración y apoyo constante para la realización de sus estudios de posgrado y para la culminación de la presente investigación al:

Ing. Zoot. M. Sc. Roque Vivas Moreira. Rector de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Ing.Com. Guadalupe Murillo de Luna Vicerrectora Administrativa de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Dr. Eduardo Díaz. Director de la Unidad de Posgrado, de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Ing. Zoot. Msc. Adolfo Sanchez Iaiño tutor de la tesis de grado

Dr. Delsito Zambrano Gracia Decano de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Ing. Zoot. Msc. Ítalo Fernando Espinoza guerrero miembro y docente de la facultad de ciencias pecuarias

Ing. Zoot. M. Sc. Kleber Estupiñan veliz docente de la facultad de ciencias pecuarias.

DEDICATORIA

La presente tesis se la dedico a mi padre y a mi madre quien con su perseverancia me inculcó el estudio, a mi esposa y mis hijos y a mi hermano por ayudarme a cumplir mis objetivos como persona y profesional.

Ing. Zoot. BOLÍVAR MONTENEGRO VIVAS

CONTENIDO

Capítulo	Página
Certificación.....	ii
Autoría.....	iii
Agradecimientos.....	iv
Dedicatoria.....	v
Índice de cuadros.....	vi
Índice de figuras.....	vii
Índice de Anexos.....	viii
Resumen.....	ix
Summary.....	x
1.0. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivos	3
1.1.1. Objetivo general.....	3
1.1.2. Objetivos específicos.....	3
1.2. Hipótesis.....	3
2.0. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. generalidades de los residuos de cosechas	4
2.2. Arroz	5
2.3. Maíz.....	7
2.4. Soya.....	10
2.5 Métodos de Conservación de Alimentos	12
2.5.1. Henificación	12
2.5.2. Amonificación	12
2.5.3. Ensilaje	16
2.5.3.1. Fermentación de Ensilajes	
Tropicales.....	17
2.5.3.2. El Proceso del Ensilaje.....	17
2.5.3.2.1. Fase 1 Fase Aeróbica	18
2.5.3.2.2 Fase 2 Fase de Fermentación	18
2.5.3.2.3. Fase 3 Fase Estable.....	18
2.5.3.2.4 Fase 4 Fase de Deterioro del Aeróbico	18
2.6 Digestibilidad	20
2.6.1 Método Directo	21
2.6.2 Método Indirecto	21
2.6.2.1 Digestibilidad Aparente	22
2.6.2.2 Digestibilidad Verdadera	22
2.6.2.3 Tasa de pasaje	23
2.6.2.4 Pasaje de sólidos del Reticulo Rumen	24
2.7 Cinética de la Digesta Ruminal	26

2.8 Aspectos Generales de la Evaluación de Alimentos	28
2.8.1 Técnicas <i>in vivo e in situ (in sacco)</i>	28
2.8.2 Metodología <i>in vitro</i>	29
2.9.1. Constitución y Composición de la Fibra de los Forrajes	32
2.9 Metabolismo de los Productos de la Degradación de los Forrajes	34
2.10 Utilización de los Forrajes por los microorganismos ruminales	38
2.11 Calidad y Digestibilidad de los Forrajes	39
2.11.1 Calidad de los Forrajes	40
2.11.2 Factores que afectan la digestibilidad de los forrajes	42
2.12 Los Forrajes Tropicales	44
2.13 Complementación alimenticia de los Rumiantes	51
2.13.1 Hidratos de Carbono de fácil fermentación	51
2.13.2 El nitrógeno no proteico (NNP) y la pollinaza	52
2.13.3 Proteína fermentable y de sobre paso	53
2.13.4 Elementos álcalis y buffer	55
2.13.5 Minerales	56
2.14 Metabolismo DE NITROGENO NO PROTEICO (NNP)	57
2.15 fermentación Ruminal	59
3.0. MATERIALES Y MÉTODOS.....	61
3.1. Localización y duración del experimento.....	61
3.2. Condiciones meteorológicas.....	61
3.3. Materiales y equipos.....	61
3.4. Métodos determinar la digestibilidad <i>in vitro</i> fluido ruminal.....	62
3.4.1 Principio	62
3.4.2 Esquema del experimento en la digestibilidad (fluido ruminal)	63
3.4.3 Análisis estadísticos	63
3.4.4 Procedimiento de la digestibilidad <i>in vitro</i> con fluido ruminal	64
3.5 Métodos para determinar la digestibilidad <i>in vitro</i> por celulasa	64
3.5.1 Principio	64
3.5.2 Esquema del experimento en la digestibilidad <i>in vitro</i> (celulasa)	65
3.5.3 Procedimiento de la digestibilidad <i>in vitro</i> con celulasa	65
4.0. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	68
5.0. CONCLUSIONES	Y
RECOMENDACIONES.....	73
6.0. BIBLIOGRAFIA.....	74
7.0 ANEXOS	93

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Composición química del arroz.....	5
2	Composición Química de la panca de arroz.....	6
3	Composición química y digestibilidad.....	7
4	Composición química del maíz.....	8
5	Composición de la panca de maíz.....	9
6	Proteína bruta y digestibilidad de la materia seca en diferentes componentes del rastrojo de maíz	9
7	Composición química y valor nutritivo promedios de diferentes formas del cultivo de soya.	10
8	Condiciones meteorológicas y otras características del lugar experimental. Fca. Exp. “La María”. UICYT, FCP. UTEQ	61
9	Esquema para la digestibilidad <i>in vitro</i> con fluido ruminal de MS de los residuos de cosecha: arroz, maíz y soya (henificado, amonificado y ensilado) a las 48 h de incubación. Fca. Exp. “La María”. UICYT-FCP-UTEQ	63
10	Esquema del análisis de varianza para la digestibilidad <i>in vitro</i> con fluido ruminal de MS de los residuos de cosecha: arroz, maíz y soya (henificado, amonificado y ensilado) a las 48 h de incubación. Fca. Exp. “La María”. UICYT-FCP-UTEQ	64
11	Esquema para la digestibilidad <i>in vitro</i> con celulasa de MS de los residuos de cosecha: arroz, maíz y soya (henificado, amonificado y ensilado). Fca. Exp. “La María”. UICYT-FCP-UTEQ	66
12	Esquema del análisis de varianza para la digestibilidad <i>in vitro</i> con celulasa de MS de los residuos de cosecha: arroz, maíz y soya (henificado, amonificado y ensilado). Fca. Exp. “La María”. UICYT-FCP-UTEQ.....	66

13	Composición química bromatológica de subproductos agrícolas henificados, amonificados y ensilados. Fca. Exp. "La María". UICYT-FCP-UTEQ	67
14	Valores de digestibilidad de la materia seca (%), in vivo, líquido ruminal-pepsina y pepsina-celulasa, para tres subproductos tropicales conservados (henificados, amonificados y ensilados). Fca. Exp. "La María". UICYT-FCP-UTEQ	68
15	Ecuaciones de regresión simple entre digestibilidad in vitro (x) e in vivo (y) para tres subproductos tropicales conservados (henificados, amonificados y ensilados) por medio de dos técnicas in vitro. Fca. Exp. "La María". UICYT-FCP-UTEQ	92

INDICE DE ANEXOS

Cuadro		Página
22	Cuadrado medio y significación estadística para el consumo de alimento (kg MS) cada 14 días y total en el engorde de ovinos tropicales bajo el efecto del consumo de dos subproductos agrícolas y tres niveles de urea. Finca Experimental “La María”. UICYT-FCP-UTEQ.....	116
23	Cuadrado medio y significación estadística para el peso inicial y peso vivo (kg) cada 14 días en el engorde de ovinos tropicales bajo el efecto del consumo de dos subproductos agrícolas y tres niveles de urea. Finca Experimental “La María”. UICYT-FCP-UTEQ.....	117
24	Cuadrado medio y significación estadística para la ganancia de peso (kg) cada 14 días y total en el engorde de ovinos tropicales bajo el efecto del consumo de dos subproductos agrícolas y tres niveles de urea. Finca Experimental “La María”. UICYT-FCP-UTEQ.....	118
25	Cuadrado medio y significación estadística para la conversión alimenticia (kg kg ⁻¹) cada 14 días y total en el engorde de ovinos tropicales bajo el efecto del consumo de dos subproductos agrícolas y tres niveles de urea. Finca Experimental “La María”. UICYT-FCP-UTEQ.....	129
26	Cuadrado medio y significación estadística para el peso a la canal (kg) y el rendimiento a la canal (%) en el engorde de ovinos tropicales bajo el efecto del consumo de dos subproductos agrícolas y tres niveles de urea. Finca Experimental “La María”. UICYT-FCP-UTEQ.....	120

RESUMEN

La investigación se ejecuto en la Fca. Exp. "La María", localizada en el km 7,0 de la vía Quevedo-Mocache; provincia de Los Ríos. Su ubicación geográfica es de 01° 6' 20" de latitud Sur y de 79° 29' 23" de longitud Oeste, a una altura de 73 msnm. El trabajo de campo tuvo una duración 150 días, entre los meses de noviembre 2010 hasta marzo 2011. Los análisis de laboratorio fueron realizados en la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), ubicada en la Panamericana Sur, km. 1,5 de la Ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo, a una altitud de 2740 msnm, 01°38' de latitud Sur y 78°40' de longitud oeste. La digestibilidad de los pastos, es un indicador importante de su calidad ya que ofrece una muy buena aproximación de la fracción del pasto que es retenida en el tracto gastrointestinal del animal. Las técnicas licor ruminal-pepsina y pepsina celulasa son algunos de los métodos *in vitro* de mayor utilización en los laboratorios para estimar la digestibilidad *in vivo* de los forrajes. El objetivo del presente trabajo fue comparar las dos técnicas de laboratorio, utilizando para ello tres subproductos agrícolas conservados (henificados, amonificados y ensilados). El análisis de la información se realizó a través del establecimiento de las ecuaciones de regresión que interpretaron la relación entre las dos variables (Y; digestibilidad *in vivo*, X; digestibilidad *in vitro*), se tomaron los valores obtenidos para cada subproducto *in vivo* y se aparearon con su respectivo promedio de la digestibilidad *in vitro* producto de tres repeticiones. La técnica líquido ruminal-pepsina fue más precisa al compararla con la técnica del licor ruminal-pepsina, al presentar un modelo más estable. Sin embargo fue menos exacta en vista de que se distancio más del valor real (*in vivo*), y su coeficiente de determinación (R^2), fue ligeramente superior con respecto a la técnica pepsina-celulasa.

Palabras clave: Alimento, digestibilidad, forrajes, rumiantes.

SUMMARY

The research was executed in the Fca. Exp "The Mary", located in the 7.0 km road-Mocache Quevedo, Los Rios province. Its geographical location is 01° 6 '20" south latitude and 79 ° 29' 23" West longitude at an altitude of 73 meters. The field work lasted 150 days, between the months of November 2010 to March 2011. Laboratory tests were conducted at the Faculty of Animal Science of the Polytechnic School of Chimborazo (ESPOCH), located on the Panamerican Highway, km. 1.5 of the City of Riobamba, Chimborazo Province, at an altitude of 2740 m, 01 ° 38 'south latitude and 78 ° 40' west longitude. The digestibility of the grass, is an important indicator of its quality as it provides a good approximation of the fraction of food that is retained in the gastrointestinal tract of the animal. Techniques rumen fluid-pepsin and pepsin cellulase are some of the in vitro methods most used in laboratories to estimate the in vivo digestibility of forages. The aim of this study was to compare the two techniques laboratory using three conserved agricultural products (hay, and silage amonificados). The data analysis was done through the establishment of regression equations interpreted the relationship between two variables (Y; vivo digestibility, X; digestibility in vitro), we used the values obtained for each product in vivo and mated with their respective average in vitro digestibility product of three replicates. The rumen fluid-pepsin technique was more accurate when compared with the technique of rumen fluid-pepsin to provide a more stable model. However it was less accurate in view of distancing itself more in the real value (in vivo), and coefficient of determination (R^2) was slightly higher compared to the pepsin-cellulase technique.

Keywords: Food, digestibility, feed, ruminants.

1.0. INTRODUCCION

Los métodos *in vivo* para determinar la digestibilidad han sido los tradicionalmente utilizados tanto en zonas templadas como tropicales para obtener la información básica requerida de los alimentos. No obstante tales métodos son costosos, tediosos y laboriosos ya que requieren infraestructura, animales, alimento, mano de obra y mayor tiempo con respecto a los métodos de laboratorio.

Es importante tener en cuenta que las técnicas de digestibilidad *in vivo* por recolección total de heces (DRTH) no miden la absorción como tal, sino la desaparición o bien una retención de las fracciones del alimento que ocurre en el tracto gastrointestinal (TGI) del animal. También debe considerarse que esta retención es bruta, en el sentido de que no se discrimina el segmento del TGI donde realmente ocurre tal desaparición.

El método convencional de determinación de la digestibilidad por colecta total de heces (digestibilidad *in vivo*), data desde antes del siglo XIX y permaneció por mucho tiempo como el más preciso y comúnmente utilizado para rumiantes y no rumiantes. Sin embargo por ser una técnica tan laboriosa, numerosas técnicas alternativas han sido sugeridas para predecir la digestibilidad. Navaratne (1990).

No solo la digestibilidad *in vivo* representa un medio útil para aproximarse al valor nutricional de los alimentos; una estimación de tal valor también puede hacerse a través de; características del forraje, (relación hoja-tallo o edad), análisis químicos, métodos *in vitro*, medidas físicas, análisis fecal y marcadores internos indigestibles. Minson (1990).

Dentro de la anterior clasificación, las técnicas *in vitro* han sido las más utilizadas; este grupo incluye las técnicas de solubilidad en líquido ruminalpepsina y solubilidad en celulasa.

La técnica de solubilidad en líquido ruminal-pepsina, es también conocida como el método de Tilley y Terry, 1963. Esta técnica se basa inicialmente en una fase fermentativa con microorganismos contenidos en el líquido ruminal de animales canulados y luego una fase enzimática con pepsina en medio ácido, añadiendo ácido clorhídrico (HCl).

En 1973 Jones y Hayward, estandarizaron el método pepsina-celulasa, utilizando una preparación de celulasa cruda comercial, en una sola fase de digestión enzimática. Luego, en el año 1975, incluyeron el pretratamiento con pepsina alcanzando a mejorar la correlación con los valores *in vivo*.

El empleo correcto de las técnicas *in vitro* o de laboratorio permite, en un tiempo relativamente corto, obtener un alto número de repeticiones o de muestras según sea el interés. Así mismo, en vista del mayor control de las condiciones, se espera que estas técnicas tengan una menor variabilidad.

Según Marshall (1997), el método Tilley y Terry (1963), ha sido el más comúnmente utilizado como método *in vitro* para predecir la digestibilidad en rumiantes y como una herramienta de selección para mejorar la calidad nutricional de los forrajes. Para Pace et al (1984), citado por Omed *et al* (1989), esta técnica es confiable, segura y precisa para un amplio rango de forrajes, sin embargo, su aplicación tiene la desventaja de necesitar animales canulados en el rumen para proveer el líquido ruminal. Existen actualmente restricciones que manejan las comisiones de ética de los organismos internacionales y nacionales de investigación para el uso de animales canulados y este es otro punto a tener en cuenta.

Aunque la técnica pepsina-celulasa obvia la necesidad de utilizar animales canulados y es recomendable por eliminar variaciones entre corridas, es una técnica costosa; además puede presentar una considerable variación en la actividad enzimática de una fuente comercial a otra. Las técnicas enzimáticas tienen la ventaja de ser completamente independientes del animal, lo cual resultaría en una menor variación, por lo que estas técnicas son relativamente fáciles de estandarizar. Marshall *et al.* (1997).

Según Ayres (1991), ambas pruebas de digestibilidad han sido ampliamente adoptadas en los laboratorios de análisis de alimentos a través del mundo. No obstante el procedimiento licor ruminal-pepsina es preferido para el análisis de muestras de forrajes de diversa morfología y genotipo, donde se presenten facilidades para manejar animales fistulados.

Está claro que todas las técnicas empleadas para valorar los alimentos tienen insuficiencias y errores, elegir la más indicada para ciertas circunstancias, con base en criterios claros es lo ideal. La presente investigación tuvo como objetivo comparar la precisión y exactitud de las dos técnicas *in vitro* (líquido ruminal-pepsina y solubilidad en pepsina-celulasa), para estimar la digestibilidad *in vivo*, utilizando para ello tres subproductos agrícolas tropicales conservados (henificados, amonificados y ensilados).

1.1. Objetivo general

Determinar el valor nutricional *in vitro* (fluido ruminal y celulasa) de los residuos de cosechas conservados de arroz, maíz y soya (henificado, amonificado y ensilado) y su comparación la digestibilidad *in vivo*.

1.1.1. Objetivo específicos

- ✓ Determinar la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (MS) de los residuos de cosecha (arroz, maíz y soya) bajo la técnica de fluido ruminal para la alimentación de rumiantes.
- ✓ Determinar la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (MS) de los residuos de cosecha (arroz, maíz y soya) bajo la técnica de celulasa para la alimentación de rumiantes.
- ✓ Comparar la técnica de la digestibilidad *in vitro* (fluido ruminal y celulasa) vs la digestibilidad *in vivo*.

1.1.2. Hipótesis

- ✓ El proceso digestivo de los rumiantes se puede reproducir *in vitro*, obteniéndose valores similares o superiores a los de la digestibilidad *in vivo*”.
- ✓ Los valores de digestibilidad *in vitro* de la MS de los residuos de cosecha están altamente correlacionados con los obtenidos mediante prueba de digestibilidad *in vivo*. Por consiguiente los métodos *in vitro* sirven para predecir la digestibilidad de la MS, MO, EB y la ED de los residuos de cosecha para la alimentación de rumiantes.

2.0. REVISION DE LITERATURA

2.1. GENERALIDADES DE LOS RESIDUOS DE COSECHAS

Sánchez, 2003, manifiesta que los residuos son las partes de las plantas que se quedan en el campo después de cosechar el cultivo principal (por ejemplo panca de arroz, maíz, y soya). Los residuos pueden ser pastoreados, procesados como un alimento seco, o convertidos a ensilaje. Algunas características generales de la mayoría de residuos son los siguientes:

- ✓ Son un alimento barato y voluminoso.
- ✓ Son altos en fibra indigestible debido a su contenido alto de lignina.
- ✓ Bajo en proteína cruda.
- ✓ Requieren suplementación adecuada especialmente con proteína y minerales.
- ✓ Requieren estar picados cuando son cosechados o antes de alimentar.
- ✓ Pueden ser incluidos en las raciones de vacas no-lactantes que tienen demandas menores para energía.
- ✓ Se consigue cuando más se necesitan que es durante el verano.
- ✓ No tiene costo y cuando lo hay es mínimo.
- ✓ Son aceptados por los animales.
- ✓ Se pueden almacenar por períodos prolongados.
- ✓ Son livianos y voluminosos, lo cual encarece su transporte.

Gran cantidad de residuos de cosechas están disponibles especialmente de los cultivos anuales. En forma general se caracterizan por poseer: bajos porcentajes de PB, la cual tiene baja digestibilidad, altos tenores de carbohidratos estructurales muy lignificados. Habiendo estado expuestos en forma continua a la acción del sol y las lluvias, el producto resultante posee escaso valor energético, mineral y vitamínico. Su uso fundamental es con rumiantes, siendo la limitación el tenor de PB que es inadecuado para mantener una normal actividad microbiana en el rumen (Parsi *et al.*, 2001)

El uso de los subproductos en la alimentación de rumiantes está limitado por su bajo contenido de nitrógeno y por sus altos niveles de fibra (Manyuchi y Smith, 1994), la que influye en la baja digestibilidad debido a los niveles de lignina presentes. La que está

directamente influenciada por la configuración de las células vegetales las que químicamente están estructuradas con paredes laminadas de hemicelulosa, celulosa y lignina cada una con propiedades específicas (Bidlack y Buxton 1992).

2.2. ARROZ (*Oryza sativa L*)

El arroz (*Oryza sativa L*) es una planta de la familia *Poaceae*, cuyo cultivo proporciona un comestible que constituye la base de la dieta en Asia. Su nutriente principal son los hidratos de carbono, algo de proteínas (7%) y, en estado natural, vitaminas y minerales que se suelen perder en gran proporción (hasta un 85%) con los procesos de refinado y pulido. Posee 89,0% de materia seca; 5,5% de proteína digestible; energía metabolizable de 2367 kcal; 9,0% de fibra cruda; 0,04% de calcio y 0,26% de fósforo (Terranova, 1995). En el Cuadro 1 se detalla la composición química del arroz.

Cuadro 1. Composición química del arroz

Composición nutricional	Unidad	Cantidad
Materia seca	%	89,00
NDT	%	78,00
Energía digestible	Mcal/kg	3,44
Energía metabolizable	Mcal/kg	3,07
Proteína (TCO)	%	7,20
Calcio (TCO)	%	0,02
Fósforo total (TCO)	%	0,11
Grasa (TCO)	%	0,40
Ceniza (TCO)	%	0,50
Fibra (TCO)	%	0,40

Fuente: Gélvez, 2009

Tiene como ventaja de ser un cultivo de alto estudio agronómico, de bajo costo, altamente mecanizado, de fácil almacenamiento, buen contenido nutritivo, sin componentes tóxicos, con una elevada oferta permanente del producto y produce subproductos aprovechables en la producción animal. En cuanto a los resultados obtenidos en la alimentación de cerdos, se ha encontrado que sustituciones de 50% de arroz *paddy* equivalen a raciones testigos basadas en maíz - soya, permitiendo disminuir los costos por kilogramo de alimento. No obstante, existe una especie de consenso general sobre reemplazos mayores de 60% de maíz por arroz *paddy*, lo cual reduce las ganancias de peso al aumentar el nivel de fibra en

la dieta y disminuir la digestibilidad de los nutrimentos, así como por el efecto abrasivo de la cáscara a nivel del intestino (GER, 1991).

Entre estos residuos de la agricultura vegetal, tiene singular importancia la paja de arroz obtenida después de la cosecha del grano. Este residuo puede ser pastoreado directamente o cosechado para tratamientos predigestivos a fin de mejorar su calidad nutricional y consecuentemente aumentar la producción y productividad animal (Godoy y Chicco, 1997). Los animales que se alimentan con una ración de paja de arroz sin suplementos, no ganan peso y a veces pierden, por lo que debe suplementarse con proteína y una fuente de energía para un uso más eficiente (Ruiloba y Ruiz 1979, citado por Sánchez, 2009). La composición de la panca de arroz se detalla en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Composición Química de la panca de arroz

Composición nutricional	Unidad	Cantidad
Materia seca	%	89,95
NDT	%	X
Energía digestible	Mcal/kg	X
Energía metabolizable	Mcal/kg	1,16
Proteína (TCO)	%	3,15
Calcio (TCO)	%	0,26
Fósforo total (TCO)	%	0,05
Grasa (TCO)	%	X
Ceniza (TCO)	%	X
Fibra (TCO)	%	32,38

Fuente: Gévez, 2009

La paja de arroz se diferencia de las otras, debido a que presenta un menor contenido de lignina (6-7%), pero un alto contenido de sílice, que puede llegar hasta un 16 % de la materia seca, lo que hace que su estructura sea muy dura y que en algunos casos provoque daños en las mucosas del tracto digestivo. Además este alto contenido de cenizas que posee, diluye el contenido de materia orgánica y por lo tanto reduce el valor alimenticio de esta paja. El contenido de proteína es más alto que el de las otras pajas, llegando hasta el 11% (Conrad y Pastrana, 1989, citado por Sánchez 2009) y su digestibilidad fluctúa entre 45-48%. La dureza de la fibra hace que este residuo no sea muy aceptado por los animales, a menos que se troce de o se someta a tratamientos químicos. No se recomienda su inclusión en niveles sobre el 30% de la dieta, aunque en casos de emergencia puede constituir el 100% de esta. En el Cuadro 3 se detallan la composición química y la digestibilidad.

Cuadro 3. Composición química y digestibilidad

Tipo de paja	Proteína cruda (%)	Digestibilidad de la MS (MS)
Arroz	3.0 - 11.0	35 – 42
Avena	3.70 - 4.90	50
Cebada	4.0 - 4.40	45 – 50
Centeno	3.30 - 3.80	44
Trigo	3.20 - 4.50	39 – 53

Fuente: Vet-Uy, 2004

El valor nutritivo de la paja de arroz es bajo si se considera su contenido de proteína (4,66 %) y digestibilidad *in vitro* (41,4 %). Sin embargo, presenta un contenido alto de minerales, en especial, el calcio (0,56%) y potasio (1,82 %). Debido al uso de plaguicidas en el cultivo de arroz, es importante establecer si la paja contiene residuos tóxicos en cantidades que pueden afectar al animal y al hombre (Ruiloba y Ruiz, 1979, citado por Sánchez, 2009).

Perdock (1992), manifiesta que la composición química de la panca de arroz es de: proteína cruda 4,8%, grasa 2,1%, fibra 31,7%, energía libre metabolizable 34,6%, y calcio 1,58 por ciento.

Caluya y Sair, 1995 indican que es un forraje voluminoso de baja calidad nutritiva (92% MS, 3,3% PB, 1,5% extracto etéreo y 32,8% FB), tosco cuando seco y de muy bajo consumo voluntario en su forma natural.

2.3. MAÍZ (*Zea mays L.*)

Terranova 1995, manifiesta que el maíz (*Zea mays L.*) es originario de América, donde era el alimento básico de las culturas americanas muchos siglos antes de que los europeos llegaran al nuevo mundo.

El maíz forma un tallo erguido y macizo, una peculiaridad que diferencia a esta planta de casi todas las demás gramíneas, que lo tienen hueco. La altura es muy variable, y oscila entre poco más de 60 cm en ciertas variedades enanas y 6 m o más; la media es de 2,4 m. Las hojas, alternas, son largas y estrechas. El tallo principal termina en una inflorescencia masculina; ésta es una panícula formada por numerosas flores pequeñas llamadas espículas, cada una con tres anteras pequeñas que producen los granos de polen o gametos masculinos. La inflorescencia femenina es una estructura única llamada mazorca, que

agrupa hasta un millar de semillas dispuestas sobre un núcleo duro. La mazorca crece envuelta en unas hojas modificadas o brácteas; las fibras sedosas o pelos que brotan de la parte superior de la panocha o mazorca son los estilos prolongados, unidos cada uno de ellos a un ovario individual. El polen de la panícula masculina, arrastrado por el viento (polinización anemófila), cae sobre estos estilos, donde germina y avanza hasta llegar al ovario; cada ovario fecundado crece hasta transformarse en un grano de maíz (Terranova, 1995). En el Cuadro 4 se detalla la composición química del maíz.

Cuadro 4. Composición química del maíz

Composición nutricional	Unidad	Cantidad
Materia seca	%	88,00
NDT	%	78,00
Energía digestible	Mcal/kg	3,40
Energía metabolizable	Mcal/kg	3,05
Proteína (TCO)	%	9,40
Calcio (TCO)	%	0,03
Fósforo total (TCO)	%	0,29
Grasa (TCO)	%	3,80
Ceniza (TCO)	%	1,30
Fibra (TCO)	%	2,60

Fuente: Gévez, 2009

El cultivo del maíz produce una gran cantidad de biomasa, de la cual el hombre cosecha apenas cerca del 50% en forma de grano. El resto, corresponde a diversas estructuras de la planta tales como caña, hoja, limbos y mazorca, entre otros. La producción de biomasa residual que genera un cultivo de maíz de grano (cañas, hojas, chalas y mazorcas), fluctúa entre 20 a 35 toneladas por hectárea y en el maíz de choclo (cañas y hojas) varía entre 16 a 25 toneladas por hectárea. La proporción entre los componentes del residuo depende principalmente de la variedad, nivel de fertilización y tipo de cultivar. (Pasturas de América, 2006). La composición de la panca de maíz se detalla en el Cuadro 5.

La composición química indica que el rastrojo de maíz es bajo en materias nitrogenadas (4,5% de proteína bruta promedio). La pared celular presenta un mayor porcentaje de hemicelulosa que de celulosa. Su bajo porcentaje de lignina lo hace ser más digestible que las pajas de cereales, siendo así mismo más rico en azúcares solubles que éstas. Por esta razón este residuo presenta un valor energético superior al de las pajas de cereales, fluctuando entre 1,69 y 2,1 Mcal/kg de materia seca. (Manterola y Mira, 1999).

Cuadro 5. Composición de la panca de maíz

Composición nutricional	Unidad	Cantidad
Materia seca	%	85,00
NDT	%	51,00
Energía digestible	Mcal/kg	2,15
Energía metabolizable	Mcal/kg	1,75
Proteína (TCO)	%	5,40
Calcio (TCO)	%	0,47
Fósforo total (TCO)	%	0,07
Grasa (TCO)	%	1,10
Ceniza (TCO)	%	6,10
Fibra (TCO)	%	29,50

Fuente: Gélvez, 2009

Manterola y Mira (1999), indican que la tasa de degradación de la materia seca a nivel ruminal es baja y lenta, alcanzando niveles de 22%, lo que afecta el consumo. Bavera (2001), indica que los rastrojos de maíz son los tallos y las hojas que han quedado en el suelo después de pasar la cosechadora, y tiene un 32 - 38% de fibra y de 3 - 6% proteína cruda.

En el Cuadro 6 se detallan la proteína bruta y digestibilidad de la materia seca en diferentes componentes del rastrojo de maíz.

Cuadro 6. Proteína bruta y digestibilidad de la materia seca en diferentes componentes del rastrojo de maíz

Componente	PB (%)	DIVMS (%)
Hojas	4,5	55,6
Tallos	3,1	59,7
Chalas	4,7	69,1
Mazorcas	4,7	58,0
Cañas + Hojas	4,2	55,8

Fuente: Vet-Uy, 2004

El uso directo del rastrojo está reservado más bien a vacunos, ya que dado el grosor de los tallos, los ovinos y caprinos no pueden aprovechar bien este recurso, debiendo trozarse, pero aun así habrá un alto porcentaje de rechazo (Manterola, y Mira, 1999).

2.4. SOYA (*Glycine max*)

La soya (*Glycine max*) es una planta leguminosa como los guisantes o las habas verdes. La soya no es muy exigente en suelos muy ricos en nutrientes, por lo que a menudo es un cultivo que se emplea como alternativa para aquellos terrenos poco fertilizados que no son aptos para otros cultivos. La soya se puede producir en una variedad de suelos y de una amplia gama de climas. La planta de la soya es una planta melenuda erguida de cerca de 0,7 a 1,4 m. Esta planta alcanza los 80 cm de altura, la semilla de soya se produce en vainas de 4 a 7 cm. de longitud. Cada vaina de soya contiene de 2 a 4 porotos de soya. Las semillas, casi esféricas, suelen ser de color amarillo claro. Las semillas contienen alrededor de un 20% de aceite y un 37% de proteínas (Terranova, 1995). En el Cuadro 7 se detalla la composición química de la soya.

Cuadro 7. Composición química y valor nutritivo promedios de diferentes formas del cultivo de soya.

Item	Poroto (semilla entera, cruda)	Sojilla (residuo o clasificación (1))	Expeller (harina extracción solvente)	Cáscara(Cubierta exterior del poroto)	Planta entera (ciclo cumplido)	Planta entera(estado vegetativo(2))	Rastrojo(Residuo post-cosecha)
Materia Seca%	87.3	90.6	89.2	86.9	84.2	22.0	86.6
Proteína Bruta%	32.5	25.6	44.5	16.8	24.1	22	6.9 (3)
Fibra D. Neutro %	23.2	50.3	15.0	62.3	52.3	45	72.2
Fibra D. Acido %	18.7	38.7	8.9	54.2	41.9	30.0	61.9
Lignina %	6.4	8.5	0.7	1.2	12.0	8.0	11.8
Lípidos	17.8	10	2.5	3.5	13.7	2.5	1.2
Cenizas%	6.6	12.7	6.4	12.0	6.2	8.9	16.2 (4)
Energía							
(EM-Mcal/kg MS-)	3.6	2.58	3.29	2.45	2.22	2.38	0.98

(Fuente: Gallardo y Gaggiotti, 2003. Lab. Producción Animal- AIPA- EEA Rafaela-INTA)

Recurso fibroso de muy baja calidad que, si se utiliza como principal ingrediente no permite abastecer los mínimos requerimientos de mantenimiento, aún de las categorías de

menores necesidades (Gallardo y Gaggiotti, 2003). En este recurso, los tallos representan la parte más importante, los que se tornan "leñosos" cuando el cultivo ha completado su ciclo, ya que la pared celular se impregna masivamente con lignina. Recordemos que la *lignina* es un compuesto fenólico considerado como un *factor de anti-calidad* puesto que no sólo es de digestibilidad "nula" sino que además constituye una barrera que limita la digestibilidad de los otros componentes digestibles de la planta. Además es un recurso fácil de contaminarse con tierra (sílice) y otros elementos del ambiente (Gallardo y Gaggiotti, 2003).

A pesar de esto, es posible utilizarlo a modo de "acción mecánica ruminal" (fibra efectiva) en aquellas dietas muy altas en concentrado, donde este principio es escaso y hay alto riesgo de acidosis. Sin embargo, la regulación del consumo debe estar en extremo controlada, de manera de no superar el 5 a 8% de la materia seca total suministrada. Pero si se superan estas proporciones o se utiliza como principal o única fuente de fibra (como suelen utilizarse los rollos tradicionales de alfalfa o de moha) el ganado perderá peso y condición corporal rápidamente. No se recomienda su uso bajo condiciones de pastoreo, justamente porque es imposible controlar el nivel de ingestión. En general, el ganado tiende a rechazar este material ya que es muy poco palatable (Gallardo y Gaggiotti, 2003). La composición química de este material es aproximadamente un 97,2% de materia seca y un 10,7% de Proteína Bruta (Bavera, 2001). En el Cuadro 8 se detalla la composición de la panca de soya.

Cuadro 8. Composición química de la panca de soya

Composición nutricional	Unidad	Cantidad
Materia seca	%	88,00
NDT	%	37,00
Energía digestible	Mcal/kg	1,60
Energía metabolizable	Mcal/kg	1,21
Proteína (TCO)	%	4,50
Calcio (TCO)	%	1,40
Fósforo total (TCO)	%	0,05
Grasa (TCO)	%	1,30
Ceniza (TCO)	%	5,60
Fibra (TCO)	%	39,00

Fuente: Gélvez, 2009

2.5. MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS

2.5.1. Henificación

El heno es el producto resultante de la deshidratación natural del forraje a un nivel de humedad generalmente inferior al 15% y sin exposición directa al sol. La conservación del producto, depende en impedir que procesos biológicos tales como enmohecimiento y fermentación tengan lugar (Sánchez, 2003).

El heno se seca para impedir su deterioro, el secado cuidadoso es necesario para una conservación eficaz, aunque si éste es excesivo puede tener como resultado la pérdida de proteínas. El secado puede realizarse de tres modos: en el propio campo, en henares, o por deshidratación artificial. El heno que ha de secarse en los campos se corta por la mañana en cuanto se haya evaporado el rocío. Se dispone después en hileras en cuanto las hojas empiezan a marchitarse. Estas hileras se voltean con horcas al día siguiente para permitir que el heno se seque de forma uniforme y, si el clima es favorable, puede quedar listo para su almacenamiento por la tarde. A continuación se almacena en un henar o se forma un gran montón con él en el exterior, llamado almiar. El heno bastante seco contiene el 20% de humedad aproximadamente. El heno recogido en el henar se seca en parte en el exterior y más tarde se introduce en una cortadora, donde se completa el secado haciendo pasar aire caliente a través de él. En el caso de la deshidratación artificial, el heno se retira del campo nada más cortado o cuando empieza a languidecer. Por último, se corta al tamaño adecuado y se hace pasar por una cámara de aire caliente que hace que la humedad se evapore con rapidez (CORPOICA, 2006).

2.5.2. Amonificación

El tratamiento químico de las pajas mediante la amonificación se inició desde la década de los años 70 del siglo pasado, con el uso de amoniaco anhidro, gaseoso o mediante el hidróxido de amonio. Esta técnica se realiza de la manera siguiente: se construye con las pacas de paja de los diferentes cultivos una pila de diferente tamaño, según las medidas de la sábana de polietileno de que se disponga, esta hoja de plástico debe ser de un espesor de 0.20 milímetros para pacas de trigo, avena o cebada, y de 0.40 mm para pacas de maíz. En la base de la pila se coloca igualmente una tela de plástico de unos seis metros de ancho

por seis metros de largo de la que se deja alrededor una superficie libre de 70 centímetros. Las pacas se acomodan en capas alternas cuatropeadas, para lograr un buen amarre. En el centro y en la parte superior se pone una sola hilera para que al recubrir la pila con la tela de plástico de diez por diez metros ésta quede inclinada para que las lluvias escurran, pues la pila debe instalarse a la intemperie, lejos de viviendas y otras construcciones. A la mitad de la pila se instala un tubo perforado en el que se conecta la manguera y por donde se inyecta el amoníaco, después de que la pila se ha cubierto con el plástico (Barrios y Ventura, 2002).

El tiempo que la pila deberá permanecer cerrada, dependerá de la temperatura ambiente (en clima frío, ocho semanas y en clima caluroso, seis semanas (Barrios y Ventura, 2002).

Los forrajes o materiales que se pueden amonificar en la forma descrita son: rastrojo de maíz o sorgo, henos de pastos, así mismo pajas de trigo, avenas, cebada, triticale, etc., también cascarillas de semillas fibrosas, materiales con elevado contenido de fibra y que puedan emplearse para facilitar su manejo (Barrios y Ventura, 2002).

Los forrajes de baja calidad se caracterizan por tener un alto contenido de polisacáridos estructurales (celulosa y hemicelulosa: carbohidratos que representan la principal fuente de energía para los rumiantes) y de lignina (compuestos químicos indigestibles que limitan el aprovechamiento de los carbohidratos). Las gramíneas tropicales perennes contienen, en la materia seca, más del 30% de celulosa, entre el 20 y 30% de hemicelulosa, hasta un 10% de pectinas, y de 5 a 10% de lignina. La lignina forma complejos muy resistentes con los carbohidratos estructurales en las paredes celulares, lo que contribuye a limitar la degradación de las estructuras fibrosas (fuente principal de energía). Por tal razón, los procesos de delignificación (químico, físicos y biológicos) mejoran su fermentación (Barrios y Ventura, 2002).

Como antes se menciona el poco uso en la dieta de los animales rumiantes de este subproducto es por su limitada digestibilidad, por lo que cualquier esfuerzo que se realice en mejorarla es de gran beneficio para los productores pecuarios. Así, algunos investigadores se ha dado a la tarea de investigar diferentes tipos de tratamientos, entre los que se encuentran: físicos (Thompson y Beever, 1980, citado por Sánchez 2009), químicos (Atwell *et al.*, 1991; Cameron *et al.*, 1991), microbiológicos (Blanchette, 1984, citado por

Sánchez 2009) o combinaciones de estos (Ben-Ghedalia y Mancipar, 1979, citado por Sánchez 2009).

Recomendaciones:

- ✓ Una vez abierta la pila deberá de airearse durante tres días, antes de proporcionarse el material amonificado al ganado, para eliminar el exceso de amoniaco.
- ✓ El material tratado no es conveniente que se almacene en lugares húmedos y que tenga poca luminosidad.
- ✓ La persona que inyecte el amoniaco no debe olvidar todas las precauciones que se requieren en el manejo adecuado del producto (guantes, mascarillas, disponibilidad de agua, etc.).
- ✓ El esquilmo amonificado proporciona mejores resultados en la alimentación del ganado, si se complementa su contenido con otros ingredientes alimenticios, como las pastas de oleaginosas, granos de cereales, melaza o concentrados.
- ✓ El amoniaco es un fertilizante nitrogenado de amplia disponibilidad y económico, que ofrece mejoras sustanciales y un considerable ahorro por concepto de costos de alimentación, al ser utilizado en la amonificación de los forrajes de mala calidad, lo que se traduce en una mejor alimentación a bajo costo (Barrios y Ventura, 2002).

La utilización de urea como fuente de NH_3 en el tratamiento de los esquilmos fue ideado para la aplicación a ingredientes molidos y empastillados o picados y ensilados asperjados para ser ensilados en la granja por el tiempo suficiente para que la enzima ureasa actúe sobre la urea y libere NH_3 (Sundstol y Coxworth 1984, citado por Sánchez, 2009).

Cada año se presenta la época de sequía y como consecuencia los animales bajan de peso, llegando en algunos casos a ocasionarles la muerte. Con los residuos de sus cosechas tratadas con amoniaco, se puede disponer de forrajes de auxilio con aceptable valor nutritivo, para proporcionarlo en épocas críticas (Cruz, 2007).

Datos preliminares sobre el potencial de uso de residuos de cosecha y especies nativas tratadas con urea (3%) señalan incrementos notables (40%) en el consumo. Estos tratamientos de subproductos agrícolas y especies nativas representan una alternativa de enorme potencial en épocas de escasez de forraje (San Martín, 1994).

En la paja de arroz amonificadas, reportan incrementos en la digestibilidad de la materia orgánica del 17% y de la fibra en detergente ácido del 19%. En residuos de cosecha de maíz se observaron incrementos en la proteína de 6.1-11.5% (Grupo Latino, 2004).

Cada 100 kg. de paja de arroz o cereales, 4-5 kg. de urea disuelta en 20-40 litros de agua. Con posterioridad a este tratamiento, los fardos deberán estar tapados durante 20-30 días. Los resultados obtenidos de estos tratamientos son los siguientes: La proteína bruta aumentó de un 4 a un 8%. La digestibilidad de la materia seca pasó de 45 a 57 %. El consumo de materia seca por parte de los animales aumentó un 34 %. El consumo de energía digestible aumentó un 73 %. El amonio inhibe el desarrollo de hongos (Bartaburu *et al.*, 2010).

Diversos investigadores en todo el mundo han confirmado la mejora de la digestibilidad, cuando trataron químicamente residuos lignocelulósicos. El objetivo de Souza y Dos Santos 2002, al estudiar la digestibilidad *in vivo*, el balance de nitrógeno y la ingestión voluntaria en ovinos alimentados con paja de cebada tratada con urea donde su composición química presenta una materia seca de 79,10%, una proteína bruta de 14,60%, materia orgánica 93,32%, fibra detergente neutra 72,40 y fibra detergente ácida 42,39%.

El tratamiento con urea sobre los henos hidroliza los enlaces químicos ligno-celulósicos de la pared celular, mejorando el acceso de los microorganismos ruminales a la celulosa y hemicelulosa, además de incorporar NNP al forraje. La paja de arroz tratada con urea presenta una composición química en cuanto a la proteína del 9,1%; FDN 66,6 y FDA 46,9 (Gane *et al.*, 2009).

Arelovich *et al.*, (2006), consideran que las principales limitantes a la productividad de rumiantes sobre Forrajes de Baja Calidad, son: bajo consumo voluntario (consecuencia de su baja densidad y alto contenido de fibra) e insuficiente N disponible a nivel ruminal para activar la síntesis de proteína microbiana. La paja de trigo tratada con urea presenta una PB del 8,81%; FDN 74,46%; FDA 50,60%; Ceniza 7,02%.

Bartaburu *et al* (2010), el tratamiento de paja de arroz con urea tiene como objetivo degradar la estructura de la fibra y aportar nitrógeno. Se recomiendan las siguientes dosis: Cada 100 kg. de paja de arroz o cereales 4-5 kg. de urea disuelta en 20-40 litros de agua.

Con posterioridad a este tratamiento, los fardos deberán estar tapados durante 20-30 días. Los resultados obtenidos de estos tratamientos son los siguientes: La proteína bruta aumentó de un 4 a un 8%. La digestibilidad de la materia seca pasó de 45 a 57 %. El consumo de materia seca por parte de los animales aumentó un 34 %. El consumo de energía digestible aumentó un 73 %.

Tassón *et al.*, 1987, citado por Sánchez (2009), trataron con 10% de urea, heno de los pastos, Pangola, *Brachiaria hunzidicola*, Jaragua, además de capullo de maíz, paja de arroz y cogollo de caña de azúcar, en todos los casos, aumentó en al menos 6% el contenido de PC del producto ya tratado.

Das y Kundu (1994), trataron paja de trigo adicionándole 3% de urea, con lo que se aumentó el contenido de PC (3,7 vs 8,0) en 43% la hemicelulosa (18,1 vs 25,9%), disminuyendo en 13% la FDA (62,9 vs 54,9), celulosa (48,8 y 1,9%) y 2% en la lignina (9,6 vs 9,4%).

Por otro lado, Haddad *et al* (1995), con paja de trigo tratada con 3% de urea observaron un aumento en la PC (5,8 vs 9,5%), ligera disminución en FDN (76,0 vs 73,6%) y hemicelulosa (22,4 vs 20,2 %), con un descenso de 55% en la concentración de lignina (9,5 vs 4,3%), sin cambio en el contenido de fibra detergente ácida. Y como dato importante, a partir de la década de los 70 el de mayor uso es a base de hidróxido de sodio (NaOH), el cual está asociado con la solubilización parcial de la hemicelulosa, lignina, sílice, la hidrólisis de ácido urónico y ésteres de ácido acético (Chesson *et al*; 1983; Jacson 1977; Klopffestein 1978 y Sundstol 1984, citados por Sánchez 2009).

2.5.3. Ensilaje

El forraje fresco de cultivos de gramíneas y leguminosas, pueden ser conservados por medio del ensilaje. En muchos países los forrajes ensilados son muy apreciados como alimento animal. En Europa, los agricultores de países como Holanda, Alemania y Dinamarca, almacenan más de 90% de sus forrajes como ensilaje. Aún en países con buenas condiciones climáticas para la henificación, como Francia e Italia, cerca de la mitad del forraje es ensilado (Wilkinson *et al.*, 1996, citados por Stefanie *et al.*, 2009). Para producir un ensilaje de buena calidad es esencial asegurar que se produzca una buena

fermentación microbiana en el ensilado. El proceso de fermentación no depende sólo del tipo y la calidad del forraje, sino también de la técnica empleada para la cosecha y para el ensilaje.

2.5.3.1. La fermentación de ensilajes tropicales

El ensilado de cultivos forrajeros o de subproductos industriales podría aportar una importante contribución para optimizar el funcionamiento de los sistemas de producción animal en zonas tropicales y subtropicales, pero su empleo es todavía muy escaso (Wilkins *et al.*, 1999, citados por Stefanie *et al.*, 2009). Si bien esto se debe en parte a los bajos precios de los productos ganaderos, al poco uso de la mecanización y al alto costo de los materiales para el sellado del silo, también se debe a la falta de experiencia práctica en la técnica del ensilaje. Se necesitan además más investigaciones para dilucidar ciertos temas específicos del ensilaje en zona tropical. Uno de estos temas se refiere al hecho que las gramíneas y las leguminosas tropicales tienen una alta concentración relativa de componentes de la pared celular y un menor contenido de carbohidratos disponibles para la fermentación, comparados con cultivos forrajeros de zonas templadas (Catchpoole y Henzell, 1971; Jarrige *et al.*, 1982, citados por Stefanie *et al.*, 2009). Además, la temperatura del ambiente durante el período de almacenaje en la zona tropical es mayor que aquella de climas templados, lo cual proporciona una gran ventaja a los bacilos sobre el grupo BAC (Gibson *et al.*, 1958, citado por Stefanie *et al.*, 2009). Por otro lado debe considerarse que algunos materiales empleados para sellar los silos se rompen al no soportar la fuerte radiación solar del trópico, lo que puede contribuir a dañar la estabilidad aeróbica del ensilaje. A pesar de todas las dificultades, es altamente probable que las técnicas de ensilaje empleadas en zonas templadas puedan servir para adaptar y desarrollar variantes apropiadas para las condiciones tropicales.

2.5.3.2. El proceso del ensilaje

El ensilaje es una técnica de preservación de forraje que se logra por medio de una fermentación láctica espontánea bajo condiciones anaeróbicas. Las bacterias epifíticas de ácido láctico (BAC) fermentan los carbohidratos hidrosolubles (CHS) del forraje produciendo ácido láctico y en menor cantidad, ácido acético. Al generarse estos ácidos, el pH del material ensilado baja a un nivel que inhibe la presencia de microorganismos que

inducen la putrefacción. Una vez que el material fresco ha sido almacenado, compactado y cubierto para excluir el aire, el proceso del ensilaje se puede dividir en cuatro etapas (Weinberg y Muck, 1996; Merry *et al.*, 1997, citados por Stefanie *et al.*, 2009).

2.5.3.2.1. Fase 1 - Fase aeróbica. En esta fase que dura sólo pocas horas el oxígeno atmosférico presente en la masa vegetal disminuye rápidamente debido a la respiración de los materiales vegetales y a los microorganismos aeróbicos y aeróbicos facultativos como las levaduras y las enterobacterias. Además hay una actividad importante de varias enzimas vegetales, como las proteasas y las carbohidrasas, siempre que el pH se mantenga en el rango normal para el jugo del forraje fresco (pH 6,5-6,0).

2.5.3.2.2. Fase 2 - Fase de fermentación. Esta fase comienza al producirse un ambiente anaeróbico. Dura de varios días hasta varias semanas, dependiendo de las características del material ensilado y de las condiciones en el momento del ensilaje. Si la fermentación se desarrolla con éxito, la actividad BAC proliferará y se convertirá en la población predominante. A causa de la producción de ácido láctico y otros ácidos, el pH bajará a valores entre 3,8 a 5,0.

2.5.3.2.3. Fase 3 - Fase estable. Mientras se mantenga el ambiente sin aire, ocurren pocos cambios. La mayoría de los microorganismos de la Fase 2 lentamente reducen su presencia. Algunos microorganismos acidófilos sobreviven este período en estado inactivo; otros, como clostridios y bacilos, sobreviven como esporas. Sólo algunas proteasas y carbohidrasas, y microorganismos especializados, como *Lactobacillus buchneri* que toleran ambientes ácidos, continúan activos pero a menor ritmo. Más adelante se discutirá la actividad de *L. buchneri*.

2.5.3.2.4. Fase 4 - Fase de deterioro aeróbico. Esta fase comienza con la apertura del silo y la exposición del ensilaje al aire. Esto es inevitable cuando se requiere extraer y distribuir el ensilaje, pero puede ocurrir antes de iniciar la explotación por daño de la cobertura del silo (p. ej. roedores o pájaros). El período de deterioro puede dividirse en dos etapas. La primera se debe al inicio de la degradación de los ácidos orgánicos que conservan el ensilaje, por acción de levaduras y ocasionalmente por bacterias que producen ácido acético. Esto induce un aumento en el valor del pH, lo que permite el inicio de la segunda etapa de deterioro; en ella se constata un aumento de la temperatura y la actividad de

microorganismos que deterioran el ensilaje, como algunos bacilos. La última etapa también incluye la actividad de otros microorganismos aeróbicos también facultativos como mohos y enterobacterias. El deterioro aeróbico ocurre en casi todos los ensilajes al ser abiertos y expuestos al aire. Sin embargo, la tasa de deterioro depende de la concentración y de la actividad de los organismos que causan este deterioro en el ensilaje. Las pérdidas por deterioro que oscilan entre 1,5 y 4,5% de materia seca diarias pueden ser observadas en áreas afectadas. Estas pérdidas son similares a las que pueden ocurrir en silos herméticamente cerrados y durante períodos de almacenaje de varios meses (Honig y Woolford, 1980, citados por Stefanie *et al*, 2009).

Para evitar fracasos, es importante controlar y optimizar el proceso de ensilaje de cada fase. En la fase 1, las buenas prácticas para llenar el silo permitirán minimizar la cantidad de oxígeno presente en la masa ensilada. Las buenas técnicas de cosecha y de puesta en silo permiten reducir las pérdidas de nutrientes (CHS) inducidas por respiración aeróbica, dejando así mayor cantidad de nutrientes para la fermentación láctica en la Fase 2. Durante las Fases 2 y 3, el agricultor no tiene medio alguno para controlar el proceso de ensilaje. Para optimizar el proceso en las Fases 2 y 3 es preciso recurrir a aditivos que se aplican en el momento del ensilado y cuyo uso se discutirá más adelante. La Fase 4 comienza en el momento en que reaparece la presencia del oxígeno. Para minimizar el deterioro durante el almacenaje, es preciso asegurar un silo hermético; las roturas de las cubiertas del silo deben ser reparadas inmediatamente. El deterioro durante la explotación del silo puede minimizarse manejando una rápida distribución del ensilaje. También se pueden agregar aditivos en el momento del ensilado, que pueden reducir las pérdidas por deterioro durante la explotación del silo (Stefanie *et al*, 2009).

La utilización del ensilado en la mejora de la conservación del producto gracias a su fermentación microbiana y por tanto una mejor política de aprovechamiento del pastizal por los rumiantes tiene una gran trascendencia en el tiempo. El maíz ensilado aporta con una MS 39,7; Ceniza 7; MO 32,7; PB 10; EE 2,7; FDN 42,5 y FDA 24,5 (UCO, 2010).

La composición química de la pulpa de café ensilada revela valores de materia seca (92%), extracto etéreo (2,6%), fibra cruda (20,8%), proteína cruda (10,7%), ceniza (8,8%), extracto libre de nitrógeno (49,2%) y taninos (1,8%) (Noriega *et al*, 2009).

La aptitud al ensilaje del maíz es buena debido a que no le faltan carbohidratos para ser transformados en ácido láctico, presenta un bajo poder tampón que permite que el pH baje rápidamente y porque al ensilar el contenido en materia seca es elevado. Los ensilados de maíz deben poseer un pH bajo, cercano o por debajo de 4 y los contenidos en nitrógeno amoniacal y en nitrógeno soluble deben ser inferiores al 10% y al 50% del nitrógeno total, respectivamente. Desde el punto de vista nutritivo el ensilado de maíz es un alimento de un elevado valor energético, bajo valor proteico y bajo contenido en minerales. El contenido en almidón es elevado, no siendo un forraje que aporte un alto contenido en carbohidratos estructurales, una materia seca de 35%; ceniza 4,80%; proteína 7,58%; extracto etéreo 3,76%; fibra 19,71%; fibra detergente neutra 41,38% y fibra detergente acida 22,66% (FEDNA, 2004).

2.6. DIGESTIBILIDAD

La definición más simple de digestibilidad es “La medición de la cantidad de nutrientes que después de pasar por el tubo digestivo no aparecen en las heces” (Castellanos *et al.* , 1990). Es decir que el alimento que se ingiere, una parte se aprovecha y la otra se elimina, por las heces principalmente (Flores, 1987). La digestibilidad de una ración es influenciada por factores como digestión de la materia seca, la tasa de pasaje de partículas, el pH de la digesta y la naturaleza de la población microbial existente en el rumen.

Por otra parte tenemos que el contenido del rumen puede ser visualizado en una fase líquida y una sólida. La fracción líquida contiene agua, componentes solubles de alimento y nutrientes solubles por los procesos de degradación de los microorganismos. La fracción sólida contiene material en proceso de degradación y / o material no degradable e indigestible.

El volumen de agua que entra al rumen vía ingestión animal es generalmente más grande que el volumen del material sólido. Además del líquido que se introduce al rumen de la secreción de la saliva durante la masticación (Evans, 1981).

Existen dos métodos para determinar la digestibilidad los cuáles se dividen en métodos

directos e indirectos.

2.6.1. Método directo

La estimación directa de la digestibilidad de un alimento mediante la predicción de residuos no digeridos en el rumen, esto se hace midiendo el pasaje de la cantidad de digesta en el retículo-rumen. Una forma consiste en coleccionar todas las heces producidas por los animales en experimentación. Durante todo el período de colección mediante bolsas sujetas al animal o en recipientes especiales cuando se utilizan jaulas o cubículos en la realización de la prueba (Castellanos *et al.*, 1990).

Otra forma es la que propuso Minson (1996) un método en el cuál, el contenido ruminal se mantiene en estado estable (cantidad que entra proporcional a la que sale). La alimentación continua se logra mediante un alimentador automático situado sobre las jaulas de metabolismo, donde se alojan animales fistulados al rumen. El alimento se suministra durante siete días y luego se procede a vaciar la totalidad del contenido del retículo-rumen, el cuál, luego de pesado, es muestreado para determinar los porcentajes de materia seca, materia orgánica y fibra, posteriormente, se devuelve el contenido ruminal al animal correspondiente.

2.6.2. Método indirecto

Los ensayos de la forma directa son muy laboriosos y se gasta mucho tiempo. Por ello los investigadores han buscado el método indirecto para evaluar la digestibilidad, un método que ha demostrado aceptable exactitud, se basa en el empleo de una sustancia inerte “marcador” (Maynard y Loosli, 1986). Este método elimina la necesidad de hacer la colección total de heces que además de incomodar a los animales, cuando se utiliza bolsa colectora, tiene el riesgo de pérdida de parte de las heces por accidente. Para esto se hace uso de marcadores.

La utilización de marcadores hace posible la estimación del pasaje de la digesta a través del tubo digestivo (Teeter *et al.*, 1984; Ellis *et al.*, 1979; Uden *et al.*, 1978; 1980; Pond *et al.*, 1988; 1989).

El pasaje de los sólidos se refiere al flujo de material indigestible a través del tubo digestivo. Este tránsito puede ser medido administrando marcadores, seguido de colecciones a intervalos de tiempo (Castellanos *et al.*, 1990). Dentro de la clasificación de los marcadores se encuentran los no absorbibles, son sustancias que no se absorben en el tracto digestivo y son recuperados completamente en las heces. Estos a su vez pueden ser externos e internos. Los externos son marcadores o indicadores que se adicionan a la dieta o se proporcionan oralmente. Los internos, son aquellos que aparecen naturalmente en la dieta.

Entre los marcadores externos están los metales: óxido de cromo (Cr_2O_3), cloruro de cromo (CrCl_3), cromato de sodio (Na_2CrO_4). Sales minerales: sulfato de bario (BaSO_4), tiocianato de cobre (CuSCN). Entre estos están los marcadores solubles en agua como el polietilenglicol (PEG) y ácido etilendinitrilo-tetracético de cromo (Cr-EDTA). Los marcadores internos como la sílica, lignina cromógenos (Kotby Luckey, 1972).

2.6.2.1. Digestibilidad aparente

El concepto de digestibilidad aparente se puede expresar de varias formas, dependiendo de la información que se emplee para su estimación. Así tenemos que: la digestibilidad aparente se considera como la diferencia entre la totalidad de los nutrientes excretados en las heces y lo consumido (Maynard y Loosli, 1986). Van Soest (1982) define a la digestibilidad aparente como el balance de la pérdida del alimento en las heces. Así mismo, mucha de la materia orgánica presente en las heces y por ende digestible, es de origen endógeno (descamación intestinal) y microbiana (Cullison, 1979).

2.6.2.2. Digestibilidad verdadera

La digestibilidad verdadera es el balance entre la dieta y los residuos del alimento en las heces inclusive productos del metabolismo. El coeficiente de digestibilidad verdadera es más alto que el de digestibilidad aparente. Así es de que el significado de digestibilidad verdadera está en que representa las partes del alimento disponible para la digestión animal o enzimas microbiales (Van Soest, 1982).

Castellanos *et al.*, 1990, mencionan que el concepto de digestibilidad verdadera es un

concepto teórico, para su determinación se requeriría hacer una diferenciación de los componentes que apareciendo en las heces no son de origen alimenticio directo, sino de origen metabólico.

2.6.2.3. Tasa de pasaje

Durante los últimos 20 años ha existido gran interés por desarrollar metodologías apropiadas para cuantificar la dinámica de los procesos digestivos en rumiantes (Lascano y Quiroz, 1990). La tasa de pasaje se refiere a la cantidad de digesta (como peso o proporción) que pasa por un punto en el tracto alimentario en un tiempo determinado (Kotb y Luckey, 1972).

Variaciones en la capacidad digestiva y en la tasa de pasaje de residuos digeribles y no digeridos tienen grandes implicaciones en la nutrición de rumiantes que consumen raciones de relativa baja digestibilidad, como son los forrajes tropicales. Es así como el flujo y eficiencia de utilización de los nutrientes por el rumiante, están en gran medida determinados por la capacidad o volumen del tracto digestivo, por las tasas de digestión y el pasaje de las partículas sólidas potencialmente digeridas y no digeridas. Para entender mejor los resultados de estudios de la tasa de pasaje en nutrición animal, se toma como ejemplo un modelo simplificado de la dinámica de digestión y pasaje en rumiantes propuesto por Ellis (1978). En este modelo la mayor parte del contenido celular que entra al tracto digestivo desaparece por digestión con una tasa. El contenido celular que desaparece por pasaje es pequeño y hace que esta fracción del alimento se considere de una digestibilidad nutritiva casi total y uniforme. La porción digerible de la pared celular puede desaparecer del rumen por digestión y pasaje, pero la fracción indigerible de la pared celular sólo puede desaparecer por pasaje.

En el caso de los forrajes, la pared celular constituye la fracción que tiene mayor influencia sobre el flujo de la digesta y, por ende, sobre el consumo voluntario (Lascano y Quiroz, 1990).

Para determinar la tasa de pasaje en el tracto digestivo de un forraje se usan marcadores (Lascano y Quiroz, 1990). Considerando que un marcador es aquella

sustancia que no afecta la digestibilidad de la fracción dietaria que pretende monitorear, que no es tóxico, que es recuperable totalmente en heces y de fácil determinación.

2.6.2.4. Pasaje de sólidos del retículo-rumen

Varias características físicas influyen en el pasaje así como en la rapidez y la extensión de digestión ruminal del alimento consumido. Zorrilla *et al.*, (1985) demostraron el impacto que en la fragilidad de la fibra tenía la aplicación de amoníaco a la paja de trigo y su efecto en la disgregación en partículas más pequeñas del material tratado, y su tasa de desaparición ruminal, ya fuese por digestión y / o pasaje.

Otro factor que influye en la determinación del pasaje de los sólidos de retículo-rumen, la ración la cual se ubica en la porción sólida del contenido gastrointestinal, con la limitante de que éste no es un buen estimador del flujo de los nutrientes digestibles, los cuáles podrían mostrar un comportamiento de tránsito tanto en modelos de fluidos como el de modelo sólidos (Zorrilla *at al.*, 1991).

Es por esta razón que en estudios enfocados a determinar la cinética digestiva en rumiantes, se ha recurrido al monitoreo en forma simultánea de ambas fracciones, la sólida y la líquida a través del uso de marcadores independientes. Cabe señalar que las respuestas no han sido siempre consistentes, lo que indica limitaciones metodológicas propias de este tipo de estudios y prácticamente insalvables hasta la fecha (Zorrilla *et al.*, 1985).

Los métodos *in vivo* para determinar la digestibilidad han sido los tradicionalmente utilizados tanto en zonas templadas como tropicales para obtener la información básica requerida de los alimentos. No obstante tales métodos son costosos, tediosos y muy laboriosos ya que requieren infraestructura, animales, alimento, mano de obra y mayor tiempo con respecto a los métodos de laboratorio.

Es importante tener en cuenta que las técnicas de digestibilidad *in vivo* por recolección total de heces (DRTH) no miden la absorción como tal, sino la desaparición o bien una retención de las fracciones del alimento que ocurre en el tracto gastrointestinal (TGI) del animal. También debe considerarse que esta retención es bruta, en el sentido de que no se discrimina el segmento del TGI donde realmente ocurre tal desaparición.

El método convencional de determinación de la digestibilidad por colecta total de heces (digestibilidad *in vivo*), data desde antes del siglo XIX y permaneció por mucho tiempo como el más preciso y comúnmente utilizado para rumiantes y no rumiantes. Sin embargo por ser una técnica tan laboriosa, numerosas técnicas alternativas han sido sugeridas para predecir la digestibilidad. Navaratne (1990).

No solo la digestibilidad *in vivo* representa un medio útil para aproximarse al valor nutricional de los alimentos; una estimación de tal valor también puede hacerse a través de; características del forraje, (relación hoja-tallo o edad), análisis químicos, métodos *in vitro*, medidas físicas, análisis fecal y marcadores internos indigestibles. Minson (1990).

Dentro de la anterior clasificación, las técnicas *in vitro* han sido las más utilizadas; este grupo incluye las técnicas de solubilidad en líquido ruminal-pepsina y solubilidad en celulasa.

La técnica de solubilidad en líquido ruminal-pepsina, es también conocida como el método de Tilley y Terry, 1963. Esta técnica se basa inicialmente en una fase fermentativa con microorganismos contenidos en el líquido ruminal de animales canulados y luego una fase enzimática con pepsina en medio ácido, añadiendo ácido clorhídrico (HCl).

En 1973 Jones y Hayward estandarizaron el método pepsina-celulasa, utilizando una preparación de celulasa cruda comercial, en una sola fase de digestión enzimática. Luego, en el año 1975, incluyeron el pretratamiento con pepsina alcanzando a mejorar la correlación con los valores *in vivo*.

El empleo correcto de las técnicas *in vitro* o de laboratorio permite, en un tiempo relativamente corto, obtener un alto número de repeticiones o de muestras según sea el interés. Así mismo, en vista del mayor control de las condiciones, se espera que estas técnicas tengan una menor variabilidad.

Según Marshall (1997), el método Tilley y Terry ha sido el más comúnmente utilizado como método *in vitro* para predecir la digestibilidad en rumiantes y como una herramienta de selección para mejorar la calidad nutricional de los forrajes. Para Pace et al (1984), citado por Omed *et al* (1989), esta técnica es confiable, segura y precisa para un amplio

rango de forrajes. Sin embargo su aplicación tiene la desventaja de necesitar animales canulados en el rumen para proveer el líquido ruminal. Existen actualmente restricciones que manejan las comisiones de ética de los organismos internacionales y nacionales de investigación para el uso de animales canulados y este es otro punto a tener en cuenta.

Aunque la técnica pepsina-celulasa obvia la necesidad de utilizar animales canulados y es recomendable por eliminar variaciones entre corridas, es una técnica costosa; además puede presentar una considerable variación en la actividad enzimática de una fuente comercial a otra.

Las técnicas enzimáticas tienen la ventaja de ser completamente independientes del animal, lo cual resultaría en una menor variación, por lo que estas técnicas son relativamente fáciles de estandarizar. Marshall *et al.* (1997).

Según Ayres (1991), ambas pruebas de digestibilidad han sido ampliamente adoptadas en los laboratorios de análisis de alimentos a través del mundo. No obstante el procedimiento licor ruminal-pepsina es preferido para el análisis de muestras de forrajes de diversa morfología y genotipo, donde se presenten facilidades para manejar animales fistulados.

2.7. CINÉTICA DE LA DIGESTA RUMINAL

Cuando las fases sólidas y líquidas del contenido ruminal, son marcadas pueden ser utilizadas en los estudios de nutrición para estimar el flujo, la tasa de paso, de dilución, el volumen y el tiempo de recambio, asumiendo que las condiciones están en un estado estático y siguen una cinética de primer orden, incluyendo marcadores en el área de interés (rumen), seguido por un tiempo de muestreo.

Los marcadores son definidos como sustancias inertes, no tóxicos, no absorbibles, ni metabolizables, tienen que ser ingeridos y excretados en su totalidad, además es de suma importancia que se mezclen íntimamente con el alimento. Los marcadores se clasifican en externos e internos: los externos incluyen Cromo (Cr), Cerio (Ce), Iterbio (Yb) y Erblio (Er), sobre fibras mordantadas. Los internos se refieren a los componentes naturales de la dieta que son presumiblemente indigestibles (lignina, nitrógeno fecal). Otra clasificación incluye a los absorbibles y los marcadores fecales, los primeros se

absorbidos junto con el alimento y son recuperados en la orina, los segundos no se absorben y se recuperan en las heces. Entre los marcadores utilizados para rastrear al fase líquida de la digesta ruminal se encuentra el polietilenglicol (Ellis *et al.*, 1979; Sinha *et al.*, 1970).

Para el rastreo de la fase sólida Thewis *et al.* (1979) y Wilkinson y Prescott, en 1970 han utilizado elementos como el Rutenio (Ru), Cerio (Ce) y Oxido de cromo (Cr_2O_3). Independientemente del marcador utilizado, se obtendrán irregularidades en el muestreo de heces y digesta ruminal, probablemente a las variaciones en la secreción salival o al consumo de agua (Sangines, 1998).

La estimación del volumen de sólidos y líquidos en el rumen-retículo, el flujo, la tasa de dilución, el tiempo medio de retención y tiempo de recambio, se determinan graficando la concentración del marcador en escala de logaritmo natural (\ln) contra el tiempo de muestreo, por medio del cual se obtiene la pendiente (k) y el intercepto con el eje de Y (b), (concentración del marcador al tiempo de infusión).

En la determinación del volumen ruminal (g ó ml), se asume que las condiciones del volumen de agua permanecen constantes durante el experimento, así como la tasa de flujo de agua dentro y fuera del rumen es continua, una cantidad conocida de marcador se administra directamente dentro del rumen, tomándose muestras a diferentes intervalos de tiempo. Asumiendo una condición de equilibrio y rápida homogeneización del marcador, se tiene una relación exponencial entre la concentración del marcador y el tiempo que puede expresarse en escala de logaritmo natural y graficarse como una línea recta, cuando esta línea se extrapola con el tiempo cero, se puede estimar la concentración del marcador al tiempo de dosificación (Faichney, 1975; 1993; Sutherland, 1988).

La tasa de dilución es la cantidad de digesta (como peso o proporción del volumen ruminal) que sale del rumen en un tiempo dado (Kotb y Luckey, 1972; Ellis *et al.*, 1979).

2.8. ASPECTOS GENERALES DE LA EVALUACIÓN DE ALIMENTOS

La mejor evaluación de calidad de los alimentos surge de la respuesta animal que es posible obtener con ellos. La respuesta productiva de los animales alimentados con forrajes esta determinada por el nivel de consumo (50-75% de impacto), la digestibilidad (25-50%) y por la eficiencia de utilización (5-15%; Mertens, 2000). Consecuentemente, el valor nutritivo (VN) de los alimentos resulta del efecto combinado de la digestibilidad, consumo y eficiencia de utilización (Van Soest, 1982). El consumo y la digestibilidad, surgen como las características de mayor importancia, sin embargo éstos no son medidos en forma rutinaria a causa de los elevados costos y de la importante demanda de mano de obra y tiempo que requieren los experimentos in vivo.

Los silajes se emplean en la alimentación de rumiantes principalmente por su aporte de energía y en segundo término de proteína en el caso de algunos silajes de pastura. El aporte de energía de los forrajes ensilados proviene de la digestión de la pared celular y de los hidratos de carbono de reserva de los granos que contenga (ej. Silaje de planta entera de maíz). En términos generales el porcentaje de pared celular que contienen estos forrajes es elevada, superando en forma habitual el 50% de la materia seca y además de composición sumamente variable, por lo que sus características determinan buena parte de su digestibilidad y consumo.

Los laboratorios que brindan servicios de evaluación de alimentos usualmente estiman los parámetros nutricionales empleando técnicas in situ o in vitro, o más comúnmente a través del análisis de la composición química de muestras representativas.

2.8.1. Técnicas *in vivo* e *in situ* (*in sacco*)

Como técnicas *in vivo* se entiende a las evaluaciones de alimentos que se realizan empleando animales, tales como la digestibilidad o consumo voluntario. Por razones obvias de necesidad de instalaciones, personal entrenado, costo y tiempo necesario para obtener los resultados no sirven para la evaluación comercial de alimentos.

La técnica *in situ* o también llamada de la bolsita de nylon (Ørskov y otros, 1980)

permite estudiar la cinética de desaparición del alimento en el rumen de animales fistulados. El alimento se coloca dentro de bolsitas de nylon cerradas y luego en el rumen de los animales, el retiro de distintas bolsitas a lo largo del tiempo permite medir la cantidad de material que ha desaparecido. La fracción del alimento que no se recupera dentro de las bolsitas se asume que ha sido degradado, de este modo se construye la curva de desaparición. Esta metodología representó un adelanto muy importante dentro del campo de la nutrición de rumiantes, debido a que permite el estudio de la cinética de degradación.

Esta técnica ha mostrado un buen grado de asociación con el consumo y la digestibilidad para alimentos como forrajes frescos y henos (Ørskov, 2000). En el caso de los silajes y en el de maíz principalmente, es necesario realizar algunas modificaciones a la técnica (ej. incubar material fresco y picado en reemplazo de seco y molido) para garantizar la veracidad de los resultados obtenidos.

La necesidad de animales canulados, la limitación en el número de muestras a procesar por animal canulado, y los costos asociados son las principales razones por las que esta técnica sólo se emplea en centros de investigación y no resulta práctica para laboratorios de servicios.

2.8.2. Metodologías *in vitro*

Las técnicas *in vitro* intentan simular el proceso de digestión que ocurre en el rumen donde se lleva a cabo la mayor parte de la degradación de los alimentos voluminosos (forrajes frescos y conservados).

Los sistemas *in vitro* según el tipo de información que ofrecen se pueden distinguir entre técnicas de punto final y aquellas que aportan información sobre las cinéticas de digestión. Los estudios de punto final informan la cantidad o proporción del alimento desaparecido en condiciones especificadas (por ejemplo ambiente y tiempo de incubación). La llamada digestibilidad *in vitro* refleja la digestibilidad potencial de los alimentos debido a que ha sido ajustada con mediciones *in vivo* a nivel de consumo de mantenimiento. No obstante esto, son una excelente fuente de información teniendo en cuenta su bajo costo y la rapidez con que se obtienen los resultados. Dentro de este

grupo se encuentran las que utilizan licor ruminal (Tilley y Terry, 1963; Goering y Van Soest, 1970) y las que emplean complejos enzimáticos (Aufrère, 1982).

El método de Tilley y Terry (1963) es el más antiguo y de mayor difusión. Este sistema de evaluación fue chequeado con resultados de digestibilidad *in vivo* obtenidos con ovejas estabuladas alimentadas a nivel de mantenimiento. Esta técnica ha sido utilizada durante muchos años para evaluar todo tipo de alimentos para rumiantes sin haberse chequeado, en muchos casos, su correspondencia con nuevas mediciones *in vivo* que garanticen su confiabilidad. La predicción de la digestibilidad de la materia seca (DMS) de forrajes ensilados muestra una gran variabilidad en los niveles de ajuste ($r^2 = 0.34$ a 0.80 ; Marten y otros, 1975; Givens y otros, 1995), por lo que el uso de los resultados debe realizarse con sumo cuidado.

La técnica descrita por Goering y Van Soest (1970) analiza la digestibilidad *in vitro* de la fibra insoluble en detergente neutro (FDN) además de la DMS. Esto representó un avance sobre el estudio de la digestibilidad de alimentos fibrosos, pero en forma similar a lo comentado para la técnica de Tilley y Terry (1963), para el caso de los silajes la comparación de los resultados *in vitro* con los *in vivo* ha mostrado resultados variables.

Tanto la técnica de Tilley y Terry (1963) como la de Goering y Van Soest (1970) son las metodologías *in vitro* más difundidas en los laboratorios comerciales en nuestro país. Dada las diferencias entre ambas técnicas es importante para quién interpretará los resultados del análisis conocer la técnica que se usó para la determinación.

Existen métodos *in vitro* que proveen información sobre la cinética de digestión de los alimentos, esto es la proporción del mismo que es degradada a lo largo del tiempo. La más promisorio hasta el momento ha demostrado ser la técnica de producción de gas. Asume que el gas medido es consecuencia de la degradación de la muestra de alimento. Por lo tanto al medir la cantidad de gas producido durante la incubación, se asume que la degradación de la materia seca del alimento evoluciona de modo similar.

Numerosas investigaciones han encontrado aceptables predicciones de la DMS y del

consumo a través de información obtenida con la técnica de producción de gas para diversos tipos de alimentos. Esta técnica tiene una amplia difusión en el área de la investigación en todo el mundo, pero no es utilizada corrientemente como servicio en laboratorios comerciales. Sin embargo, existen trabajos que muestran su potencial empleo para estimar tanto la DMS a nivel de mantenimiento y de producción como el consumo voluntario del alimento.

Recientemente ha sido desarrollado el sistema ANKOM (Daisy II, ANKOM Corp., Fairport, NY, EEUU) para evaluar la digestibilidad *in vitro* de alimentos para rumiantes. El método se basa en la incubación de la muestra contenida en una bolsa en frascos de incubación que se encuentran a 39°C y en agitación permanente. Mediante este sistema se han conseguido predicciones relativamente buenas de la DMS tanto aparente como verdadera (Julier *et al.*, 1999; Vogel *et al.*, 1999). Este sistema permite que sea utilizado para estimar la tasa de degradación del alimento ya que permite retirar las bolsas a diferentes tiempos de incubación (Mould y Nordheim, 1998). La mayor desventaja de esta técnica, así como la de la degradabilidad *in situ*, es la potencial pérdida de partículas del alimento sin que éstas hayan sido solubilizadas o degradadas. Sin embargo, representa una herramienta práctica y rápida para la evaluación de alimentos *in vitro* porque permite obtener tanto las tasas de digestión como la extensión de la misma. En nuestro país son escasos los laboratorios que cuentan con este equipo para brindar análisis a escala comercial.

Otro tipo de sistemas *in vitro*, lo constituyen los fermentadores continuos que pretenden simular el funcionamiento de la cavidad retículo-ruminal de los animales. La ventaja de estos sistemas es la rapidez con la que se procesan un gran número de muestras y a un costo relativamente bajo. La muestra contenida en una bolsita se incuba durante un tiempo establecido en un medio similar al que existe en el rumen. La gran ventaja de este método es que tienen una renovación permanente de su contenido, tanto en lo que respecta al ingreso de alimento como a la actividad de los microorganismos fermentadores. Esto permite garantizar un ambiente de fermentación muy similar al que ocurre en la cavidad retículo-rumen de los animales.

La técnica *in vitro* que permite el estudio de la cinética de degradación de los alimentos (producción de gas) resulta la más adecuada para predecir la DMS y el consumo. Sin

embargo, hasta el momento no se ha desarrollado un procedimiento específico para forrajes ensilados que permita su correcta evaluación y minimice la variabilidad de los resultados. A causa de la amplia difusión de las técnicas *in vitro* de punto final en los laboratorios de análisis de alimentos, resulta muy práctica su utilización; sin embargo los resultados se deben usar con el debido cuidado.

2.9.1. CONSTITUCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA FIBRA DE LOS FORRAJES

Los forrajes tropicales, pajas y esquilmos agrícolas tienen como principal característica nutricional, la presencia de un alto contenido de lignocelulosa, el cual es un complejo compuesto por celulosa, pectinas, hemicelulosa y lignina con una asociación física y química sumamente estrecha. En base a estas características, se identifican tres fracciones:

- ✓ Fracción de hidratos de carbono fácilmente fermentable por la población microbiana ruminal (glucosa, fructosa, sacarosa, almidón y algunos polisacáridos que se almacenan como fructosanas y rafinosa).
- ✓ Fracción de celulosa y hemicelulosa potencialmente digestible, pero por la presencia de lignina es parcialmente aprovechada.
- ✓ Fracción de lignina y sílice, esencialmente indigestible por los microorganismos ruminales (Elías, 1983; Wilson, 1994; Aguilera, 1988).

Los forrajes están formados básicamente por un complejo que constituye la pared celular llamado lignocelulosa (fibra), la cual está formada por dos paredes: la primaria y la secundaria. La primaria está compuesta por 90% de polisacáridos (microfibrillas de celulosa, pectina y hemicelulosa) y 10% de proteínas. La pared secundaria se sitúa envolviendo a la primaria y se genera cuando la planta alcanza su madurez, incrementándose la cantidad de celulosa, hemicelulosa y lignina (Pigden y Heaney, 1969; Wilson, 1994). La fibra, en especial la celulosa es una de las sustancias orgánicas que más abundan en la naturaleza y que, a su vez, constituye una de las mayores fuentes de energía para los rumiantes (Elías, 1983; Wilson, 1994).

La celulosa es el polisacárido más abundante de la pared celular (20-50% de la MS) y

uno de los constituyentes más insolubles, esta formada por cadenas lineales de glucosa, unidas por enlaces β -1,4 (Chesson y Forsberg, 1988). En la fibra celulósica hay alrededor de 40 cadenas de glucosa, llamada glucanos, son fuertes y se alinean por láminas sostenidas por puentes de hidrógeno, estos proporcionan una gran fuerza y resistencia a la degradación química.

En 1975 Albersheim, propuso un modelo, en el que describió la estructura de la pared celular, donde las fibras de celulosa estaban unidas por medio de los polisacáridos xilosa, arabinosa y ramosa. Adhiriéndose muchas moléculas de xiloglucanos sobre la superficie de la fibra, las cuales se unen a una cadena simple de arabinogalacturano, éstas se pueden unir a cadenas de ramnogalacturano, uniendo a diferentes fibras de celulosa; estas extensas uniones inmovilizan a la fibra en una matriz rígida.

Según el tratamiento empleado para la extracción de la celulosa de las plantas se pueden distinguir, con ayuda de la difracción de rayos X, cuatro formas cristalinas llamadas celulosa I, II, III y IV. La celulosa I es la que normalmente se encuentra formando parte de la pared celular; la II es la que se obtiene por maceración; la III se separa con etilamina anhidra y la IV se obtiene por tratamiento a altas temperaturas y es muy similar a la I. La diferencia entre estos cuatro grupos es importante en los ensayos enzimáticos destinados a su degradación ya que la celulosa II constituye un buen sustrato para estos fines (Elías, 1983).

Otro de los hidratos de carbono de la pared celular, lo constituye la hemicelulosa que es un polisacárido amorfo formado de cadenas cortas de glucanos, polímeros de xilosa, arabinosa, ramnosa, galactosa y por ácidos glucorónico y galacturónico. La hemicelulosa se diferencia del resto de las fracciones de la pared celular (celulosa y lignina), básicamente por el método de extracción a través de álcalis (Chesson y Forsberg, 1988). El contenido de hemicelulosa varía según el tipo vegetal, pero oscila en un rango de 30 a 40%.

El principal componente de la fracción hemicelulósica lo compone el xilano, éstas unidades de monosacáridos y sus derivados están unidos de forma continua por enlaces glucosídicos 1-3, 1-4 y 1-6. En su mayoría son moléculas lineales aunque pueden

poseer ramificaciones cortas; tiene un peso molecular más bajo que la celulosa y su grado de polimerización no excede a 200 (Elías, 1983).

Las sustancias pécticas, son polímeros coloidales formados, en su mayor parte, por unidades de ácido anhidrogalacturónico unido por enlaces 1-4. Tienen la característica de formar geles en presencia de sacarosa a un pH adecuado. Estas sustancias tienen dos tipos de polisacáridos. 1) Polímeros neutros; L-arabinosa y D- galactosa y 2) polisacáridos neutros y pequeñas cantidades de otros azúcares como L-ramnosa, L-fucosa y D- xilosa (Elías, 1983).

Por otra parte, un complejo tridimensional formado por un polímero de fenilpropano carbohidratado, lo constituye la lignina cuya función es dar soporte estructural y resistencia a la pared celular de las plantas (Jung y Fahey, 1983); su estructura esta formada por una mezcla de polímeros como el 3,5-dimetoxi-4- hidroxifenilpropano, por el ácido ferúlico y ácido p-cumárico, variando su proporción con respecto al tipo de vegetal.

La lignina constituye una de las partes más insolubles de la pared celular de las plantas y a causa de su estrecha asociación mediante los enlaces covalentes con los polisacáridos de la pared, frecuentemente actúa como barrera física que impide la degradación microbiana de estos compuestos, por lo que, además de no ser digerible, puede influir en la digestibilidad de otros componentes de la pared celular (Elías, 1983). La lignina esta extensamente ligada a los polisacáridos de la pared celular. A esta unión entre la lignina y los carbohidratos, se le ha denominado complejo “lignocelulósico” (Chesson y Forsberg, 1988).

2.9. METABOLISMO DE LOS PRODUCTOS DE LA DEGRADACIÓN DE LOS FORRAJES

La fermentación de glúcidos es la principal fuente de energía para la producción de ATP, el cual es esencial para el mantenimiento y crecimiento de la microbiota ruminal. La ruta primaria de fermentación de las hexosas en los microbios ruminales es la ruta de Embden-Meyerhof (EM). Los productos de degradación de la celulosa y almidón

pasan directamente a glucosa ó glucosa 6 ó 1-fosfato, mientras que los productos de degradación de pectinas y hemicelulosa pasan al ciclo de las pentosas para formar fructosa-6-fosfato ó a gliceraldehído-3-fosfato, terminando la ruta EM hasta la formación de piruvato (Lehninger, 1983). La vía completa de la EM produce 2 ATP netos, en tanto que la producción neta de ATP por la fermentación de una mol de pentosa es de 1.67 moles; esta ruta comprende la conversión de tres pentosas fosfato a dos hexosas fosfato y una triosa fosfato vía las reacciones transcetolasas y transaldolasas. El piruvato es el compuesto del cual parte la producción de acetato, propionato y butirato, formando metano y dióxido de carbono; por lo cual, su papel dentro del metabolismo de los hidratos de carbono es indispensable, tanto para la formación de piruvato como del NADH₂ y ATP, su formación varía enormemente dependiendo de los microorganismos involucrados y de las condiciones de incubación (Williams y Coleman, 1988).

La necesidad primordial dentro y entre los microorganismos, es la de mantener el balance de hidrógeno en el sistema, es decir si la metanogénesis es activa y como resultado, la presión parcial de hidrógeno en el medio exterior es baja, los microorganismos poseen una hidrogenasa que puede liberar el hidrógeno del NADH como H₂. Si el H₂ en el medio exterior es alto, la termodinámica de la reacción NADH₂+H₂+NAD, no es favorable y el organismo es forzado a reducción piruvato a lactato o propionato para mantener el balance de H₂ (Baldwin y Allison, 1983).

Entre las reacciones del piruvato se encuentra la producción de acetato, de la cual se han observado dos mecanismos donde el más común es el sistema piruvato-formato, el cual produce formato y acetil-CoA como producto inmediato. El formato es liberado y convertido a CO₂ + H₂ y posteriormente a CH₄ con la consecuente liberación de un ATP (Baldwin *et al.*, 1970; Baldwin y Allison, 1983). El otro mecanismo, es el enzimático donde el piruvato por medio de la acción de la piruvato-ferredoxina oxidoreductasa, se convierte en ferredoxina reducida, CO₂ y Acetil-CoA (Leng, 1970). El Acetil-CoA es convertido a acetato + ATP, por la fosfotranscetilasa + acetocinasa. La producción de ATP en la conversión de piruvato a acetato es de un ATP por mol (Tamminga, 1978; 1979; Thaver y Jungermann, 1977). Harrison *et al.* (1975;1976), sugirieron que la producción de acetato está asociado con la formación de 4.25

moles de ATP por mol de hexosa fermentada (Bergen, 1979; Buttery, 1981).

Por otra parte, las bacterias metanogénicas (*Methanobacterium ruminantium*) son un grupo de microorganismos que reducen el CO₂ a CH₄, con una termodinámica altamente favorable, para la formación de ATP. Los mecanismos de formación de ATP aun no son del todo conocidos. Por su parte, la inhibición en la producción de metano, ha generado incrementos en la formación de propionato, pero también hay una pérdida considerable en la cantidad de energía como H₂ (Baldwin y Allison, 1983; Wolin y Miller, 1983). El propionato es producido por la ruta del oxalacetato (orandomización) y por la ruta del acrilato (ruta de la reducción directa) Bergen, 1977. Para catalizar la carboxilación del piruvato pueden actuar tres enzimas (Baldwin y Allison, 1983):

La fosfoenolpiruvato carboxicina, la cual convierte el forfoenolpiruvato+ADP ó GDP a oxalacetato+ATP o GTP (Wolin y Miller, 1983). La piruvatocarboxilasa que transforma el piruvato+Co₂ y ATP en oxalacetato+ADP (Tamminga, 1978, 1979).

La metilmalonil-CoA carboxitransferasa, la cual transfiere una unidad de carbono de la metilmalonil- CoA al piruvato, durante la conversión de succinato a propionato.

El primer y tercer mecanismo enzimático son preferidos por los microorganismos por que completan la carboxilación sin costo energético para la célula, mientras que la reacción de piruvato carboxilasas emplea un ATP por mol. En la fermentación de la celulosa, vía la reacción de carboxiltransferasa se observa muy poco carbón reciclado, lo cual se debe a que varios microorganismos celulolíticos producen succinato como producto final (Baldwin *et al.*, 1970; Baldwin y Allison, 1983).

El ácido succinico es un importante precursor de una buena porción del propionato formado en el rumen. El succinato es descarboxilado a propionato y CO₂ (Wolin y Miller, 1983). Las bacterias que producen mayores cantidades de succinato a partir de la celulosa son: *Bacteroides ruminicola*, *Bacteroides succinogenes* y *Ruminococcus flavefaciens*. Entre los micoorganismos descarboxilantes esta *Selenomona ruminantium*, la cual se encuentra en altas concentraciones en el rumen y produce propionato, acetato y C₀₂ a partir de los glucósidos, en tanto que los microorganismos

tales como *Propionibacterium* y *Veillonella* usan la ruta del succinato para producir propionato y son capaces de descarboxilar el succinato a propionato y CO₂. Es importante señalar, que para llevar a cabo la descarboxilación del succinato es necesaria la Biotina (Wolin y Miller, 1983; Stewart y Bryant, 1988).

Cuando la celulosa es el principal azúcar de la cadena hidrocarbonada de la dieta, la ruta predominante para la producción de propionato en el rumen es la ruta del succinato o la ramdomización. No obstante cuando el almidón es el glúcido predominante, el mayor parte del propionato se produce por la ruta del acrilato o ruta de la reducción directa (Leng, 1970; Van Soest, 1982). Esta ruta alternativa ha sido identificada en bacterias tales como: *Megasphaera elsdenii*, *Bacteroides ruminicola*, la cual involucra la formación de lactato conversión de acrilil-CoA a propionil-CoA vía una crotonil-CoA reductasa unida a NADH₂ (Baldwin y Allison, 1983; Stewart y Bryant, 1988).

Debido a que el ácido propiónico, ha sido reconocido como el único ácido graso volátil gluconeogénico su producción es de vital importancia, ya que este es utilizado por el animal como fuente de energía y como sustrato para síntesis de glucosa. De esta manera, en condiciones aeróbicas el rendimiento energético por mol de ácido propiónico es de 18 moles de ATP y su rendimiento esta asociado a la producción de 4 moles de ATP por mol de hexona fermentada (Baldwin y Allison, 1983; Baldwin *et al.*, 1970; Buttery, 1981; Harrison, 1975; Wolin y Miller, 1983).

Otro de los productos de la fermentación ruminal, lo constituye el butirato el cual puede ser producido por medio de dos vías: Por la vía de la condensación de dos moléculas de acetyl-CoA ó (reversa de la *B*-oxidación) o bien por la condensación de una molécula de acetyl-CoA y una de malotil-CoA (Leng, 1970). En la ruta de malonato cuando se parte de acetato se requieren de 2 moles de ATP para formar un mol de butirato, mientras que en la reversa de *B*-oxidación, sola se requiere de un mol de ATP (Leng, 1970). La producción de butirato esta asociada a la producción de 3 moles de ATP por mol de hexosa fermentada (Bergen, 1979, Buttery, 1981, Harrison *et al.*, 1975, Leng, 1970; Thaver y Jungermann, 1977; Van Soest, 1982).

Webster en (1978), mencionó que la eficiencia de conversión de la energía de los

hidratos de carbono a AGV's (acetato, propionato y butirato), han realizado cálculos sobre el rango teórico de los rendimientos moles relativos de los AGV's. Se calculó que las pérdidas de calor de fermentación total, (F) eran constantes ha 6.4% de la energía fermentada (E). La eficiencia de conversión (E) de la energía de hexosas a energía de AGV's se expresa:

2.10. UTILIZACION DE LOS FORRAJES POR LOS MICROORGANISMOS RUMINALES

La accesibilidad del material celulósico a los agentes biodegradables, está directamente relacionada con su estructura física. La degradabilidad del material vegetal, está dada por la acción enzimática de los microorganismos, la cual a su vez esta sujeta a varios factores como: el tamaño, la forma y el área de superficie de los capilares de la pared celular, además de la capacidad de adhesión de los microbios (Wilson, 1994; Aguilera, 1988). Microorganismos tales como bacterias, hongos y protozoarios colonizan prácticamente todo el material vegetal que entra al rumen. La mayor ruta de invasión es a través de las lesiones de la epidermis vegetal. Por su parte, las bacterias celulolíticas (*Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Fibrobacter succinogenes*) se adhieren, cortan y dañan la superficie de la pared celular como primer paso del proceso de degradación, algunos hongos y protozoarios (*Neocallimastix frontalis*, *Polyplastron multivesiculatum*, *Eudiplodinium maggii*, *Epidinium ecaudatum* y *Eremoplaston bovis*) son atraídos a través de quimiorreceptores hasta el sitio de colonización, enquistándose e invadiendo el tejido vegetal (Chesson y Forsberg, 1988); Russel y Wilson, 1996; Weimer 1996; Fondevila y Dehority, 1996; Matsui *et al.*, 1998).

Este primer evento, es seguido por el inicio de la digestión de la celulosa, este mecanismo se lleva a cabo a través de la acción enzimática (celulasas) de los microbios ruminales; rompiendo el polímero, en pequeñas moléculas de diferente peso molecular como oligosacáridos, di o trisacáridos (celobiosa y celotriosa), en monómeros glucosa, en pequeños alcoholes, ácidos grasos volátiles, cetonas, metano, bióxido de carbono y agua (Chesson y Forsberg, 1988).

Las enzimas bacterianas de acción celulolítica se clasifican en tipo “exo” y “endo”, las primeras producen la separación de azúcares, comenzando por el extremo reductor de

la cadena β -1,4 glucano y el tipo “endo” actúa sobre los enlaces glucosídicos β -1,4. Las enzimas de los hongos se clasifican en tres tipos: las endo- β -1,4-gluconasas, las exo- β -1,4-gluconasas y las 1,4- β -glucosidasas, las primeras rompen los enlaces glucosídicos internos, resultando celulo-dextrinas solubles en agua. Las “exo” reducen la celulosa a celobiosa y glucosa, la última hidrolizan las celulo-dextrinas y la celobiosa, para obtener glucosa. Para degradar la celulosa cristalizada, se requiere de la acción conjunta de las enzimas “exo” y “endo” (Chesson y Forsberg, 1988).

Este fenómeno digestivo es continuado por la fermentación de la hemicelulosa, la cual se lleva a cabo por acción enzimática, liberando el disacárido xilobiosa, a través de la enzima xilosidasa para formar xilobiosa. Esta actividad representa la hidrólisis a las uniones β -1,4-xilosídicas por la hemicelulasa (Chesson y Forsberg, 1988). Los protozoarios (*Eudiplodinium maggii*, *Epidinium ecaudatum* y *Eremoplaston bovis*), participan activamente en la producción de enzimas hemicelulasas y/o xilanasas (Chesson y Forsberg, 1988). Cabe destacar que la máxima eficiencia de las enzimas celulolíticas se lleva a cabo en un rango de pH de 6.0 a 7.0 y en una temperatura promedio de 39 a 45° C.

2.11. CALIDAD Y DIGESTIBILIDAD DE LOS FORRAJES

Cuando en los pastos existen poblaciones insignificantes de leguminosas y no se aplica fertilizante nitrogenado, la fuente principal lo constituye el nitrógeno almacenado en el suelo, lo que limita la producción y contenido proteico de los pastos. El aporte de nitrógeno al suelo a través de la fijación simbiótica de las bacterias nodulares de las leguminosas es considerable. Sin embargo, aunque las leguminosas mejoran el comportamiento de los animales, es evidente que la fertilización nitrogenada a las gramíneas permite duplicar la carga y obtener mayor producto animal que en los rebaños con leguminosas. La respuesta a la fertilización nitrogenada está relacionada con la obtención de una alta producción de materia seca (MS) y por el incremento en nivel de proteína, así como una consecuente mejoría en la digestibilidad de materia vegetal. Sin embargo, esta respuesta puede variar, en lo referente al grado de digestibilidad. De esta manera, se ha encontrado que la digestibilidad se incrementa cuando el forraje es joven; invirtiéndose de forma negativa o no significativa cuando el forraje entra en estado de madurez avanzada (Elías, 1983).

En este sentido, Almanza y Paretas en (1976) utilizaron el pasto Pangola (*Digitaria decumbens*) para evaluar el grado de correlación existente entre el nivel fertilización con nitrógeno y la digestibilidad de la materia seca, encontrando una respuesta positiva, es decir que cuando la cantidad de fertilizante empleado se incrementó, la digestibilidad se incremento de igual forma.

Por otra parte, Elías en (1983), reportó evidencias de que la digestibilidad de la materia seca (DMS) está estrechamente relacionada con la proporción de hojas (hojas/tallos) de los pastos; es decir, que a medida que la planta crece se incrementan los hidratos de carbono en especial la lignina la cual ejerce una función protectora, lo que trae como consecuencia una disminución en el grado de digestibilidad del sustrato; de esta manera, la disponibilidad energética del forraje dependerá en gran medida de su contenido de lignina y fibra.

2.11.1. Consumo de los forrajes

La capacidad de consumo de los rumiantes alimentados con forrajes de baja calidad, principalmente con forrajes tropicales depende de una larga degradación del alimento; de esta manera, las partículas de alimento con un tamaño superior a 0.2 cm son retenidas por más tiempo en el rumen, disminuyendo su flujo hacia el intestino, generando una subsecuente disminución sobre el consumo (Van der Meer y Van Es, 1987).

El consumo de la materia orgánica (MO) digestible, usualmente es el factor principal, que limita la producción en los rumiantes (Arthun, 1989); es así que, el consumo responde de forma positiva a la complementación con proteína cruda; en este sentido, se recomienda realizarla principalmente en dietas donde el contenido de PC sea menor al 5% (Allden, 1981; Hennessy y Williamson, 1983). Por otra parte, Kempton *et al.* (1977) y Van Soest (1982) sugieren que la inclusión de nitrógeno en dietas con bajos niveles de PC restauraron el balance metabólico y las deficiencias nitrogenadas en los tejidos.

Ørskov en 1982 mencionó que los forrajes maduros son típicamente altos en fibra y bajos en componentes solubles, dando como resultado un pobre consumo y una baja

digestibilidad; sin embargo Elías (1983) y Ellis (1979), mencionaron que un incremento en el consumo de estas fuentes de fibra, es posible gracias a una correcta complementación; asociando algunos elementos tales como: los azúcares simples de fácil fermentación (melaza, almidón o granos de cereales), proteínas naturales (caseína, soya, gluten de maíz etc.) además de diversas fuentes de NNP (urea, pollinaza); lo que trae como consecuencia una mejoría en la tasa de digestión y pasaje de estos forrajes dentro del rumen.

Por su parte, Arthun 1989, mencionó que el contenido de energía bruta de estos forrajes no parece ser una limitante; sin embargo, su pobre consumo y digestibilidad resulta en una disminución en el aporte de energía digestible y metabolizable al hospedero. Por otro lado, Elías (1983), indicó que una complementación con azúcares solubles genera un incremento en la digestibilidad de la fibra, ya que los microorganismos ruminales (celulolíticos) son incapaces de obtener energía de la celulosa, para sus funciones celulares hasta que la molécula sea digerida; lo anterior sugiere que al inicio de la digestión es necesario la presencia de pequeñas cantidades de azúcares simples. Pero en cambio, si esta adición se incrementa por encima de los 3 kg/500 kg de PV/día se sustituye la digestión del forraje y su utilización empeora.

Asimismo, Oltjen *et al.* (1968), mencionaron que la complementación con proteína natural y NNP incrementan la digestibilidad de la MS. Además de lograr una mayor eficiencia de utilización, debido a una amplia proliferación de los microorganismos celulolíticos, cuyos requerimientos simples de nitrógeno son cubiertos por la presencia de amoníaco en el rumen procedente de la hidrólisis de las proteínas o de la urea (Bryant y Robinson, 1961; Hungate, 1966).

Asimismo, mediante la incorporación de los aminoácidos tales como la valina, lisina, isoleucina, prolina y metionina, se ejerce una influencia positiva sobre la digestión de la fibra, debido a que los microorganismo celulolíticos requieren de estos elementos para su crecimiento (Dehority *et al.*, 1958; Allison, 1969). Sin embargo Dehority *et al.* (1958) y Bryant y Robinson (1961) mencionaron que la función principal de los aminoácidos en la degradación de la fibra, es la de aportar las cadenas carbonadas necesarias, luego de su desaminación para la síntesis de AGV, especialmente los de cadena ramificada (valérico, cáprico, isobutírico e isoválerico) estimulando la celulolisis

ruminal (Elías 1983).

2.11.2. Factores que afectan la digestión de los forrajes

El estudio de la nutrición de los rumiantes, es complicado debido a las características del proceso de fermentación que se efectúa en el rumen. En este sentido, hay que tener en cuenta los procesos nutricionales por separado: la nutrición de la población microbiana ruminal y la del animal hospedero, que en su aplicación son indispensables. Por lo tanto, esta última es de vital importancia en la producción animal. La primera puede ser de mayor significancia en la utilización de los alimentos, especialmente al alimentar con dietas fibrosas. Esto se debe fundamentalmente a que la digestibilidad y utilización de los alimentos de naturaleza fibrosa para los rumiantes depende fundamentalmente de los microorganismos del rumen; en este contexto, es importante considerar los factores que influyen en la estimulación o disminución de la celulosis ruminal (Wilson, 1994; Elías, 1983).

El contenido de la pared celular de un forraje es nutricionalmente importante, por que su incremento generalmente esta seguido de una reducida digestibilidad, lo que impacta sobre un pobre consumo. Dentro de los factores que limitan la digestibilidad de la pared celular, se encuentra la inaccesibilidad de ataque microbiano, debido a la formación de complejos fenólicos (*p*-cumarico y los alcoholes coniferil y sinapil) presentes en la lignina, los cuales tiene una acción toxica sobre los microorganismos celulolíticos (Chesson y Forsberg, 1988). Entre otros factores que afectan la digestión de la pared celular, se encuentran los relacionados con el ambiente y la función ruminal, que influyen directamente sobre la población microbiana.

Asimismo la temperatura del rumen es esencial que permanezca siempre entre 38 y 42° C. Además de una secreción abundante y constante de saliva, que ayude al establecimiento del pH ruminal (5.9 y 7.4). La entrada constante de nutrimentos, es otro de los factores esenciales que garantizan el desarrollo y establecimiento de la microbiota ruminal. De esta manera, es imperativo la promoción de las condiciones de producción de gases (metano, bióxido de carbono, nitrógeno, hidrógeno) y la baja tensión de oxígeno para una mayor proliferación de los microorganismos anaeróbicos, facultativos u obligados. Aunado a los movimientos ruminales que mezclen

constantemente la digesta para que la microbiota esté en contacto con nutrientes frescos, promoviendo una actividad de rumia constante, generando una reducción en el tamaño de las partículas alimenticias; de esta manera, estos factores facilitan el ataque microbiano e influyen sobre la tasa de pasaje los alimentos fibrosos mejorando su utilización. Es imperativo reconocer que al suministrar diferentes tipos de raciones, se produzcan cambios en la actividad microbiana ruminal, influyendo no sólo en la actividad, sino también en la modificación de la población predominante en el rumen (Elías, 1983).

Entre otros factores, que afectan la digestibilidad de los forrajes, se encuentra la reducida disponibilidad del nitrógeno, la escasez de hidratos de carbono de fácil fermentación; además del déficit de algunos minerales, entre los que destacan el azufre, el fósforo y el calcio. Otros elementos indispensables para la población microbiana celulolítica (Ellis, 1979).

La digestibilidad de los forrajes, no sólo está influenciada por aspectos relacionados con la capacidad fermentativa del hospedero, si no por diversos factores como el contenido de nitrógeno y el estado de madurez de los pastos, factores climáticos (precipitación, temperatura, intensidad lumínica etc), agronómicos (riego, fertilización, etc.) edáficos y morfológicos entre otros. Lo que repercute sobre los constituyentes químicos y estructurales de los forrajes reflejándose sobre su producción y calidad nutricional (Herrera, 1983).

En este contexto, Cáceres y Santana en 1988, valoraron el rendimiento nutritivo de los pastos *Pennisetum purpureum* (King grass), *Panicum máximum* (Guinea) y *Cynodon dactylon* (Bermuda) en ovinos, considerando como factor principal la edad del rebrote. El manejo del material vegetal incluyó fertilizaciones con nitrógeno, fósforo y potasio en niveles de 400, 200 y 400 kg/ha respectivamente, una vez al año. Los resultados mostraron una disminución del contenido de proteína cruda, a medida que el pasto tuvo mayor edad. De esta manera, el contenido de PC del *P. Purpureum* disminuyó (de 8.5 a 5.8%) 46% a medida que el pasto alcanzó los 70 días de edad. De igual forma, los pastos *Panicum máximum* y *Cynodon dactylon* presentaron un comportamiento similar disminuyendo de 9.8 a 7% y de 9.2 a 6.9% respectivamente.

Asimismo, la digestibilidad de la materia orgánica (DMO) de los pastos King grass, Guinea y Bermuda disminuyó a medida que el estado de madurez se acentuó; registraron un nivel 67, 62 y 61% respectivamente, durante los 28 días de edad, esta conducta se restringió en niveles de 60, 53 y 54% respectivamente, cuando la edad alcanzó los 56 y 70 días.

Se ha mencionado que uno de los factores que afecta la digestibilidad de los forrajes es el estado de madurez; en este contexto, Pereira *et al.*, (1986) estudiaron el efecto de la edad del rebrote (48 a 69 días) sobre la digestibilidad de la MS y MO del pasto *Cynodon nlemfuensis*; sin encontrar que la edad afectara el nivel de digestión; el cual superó ligeramente el 60% en la MO y de 59 a 58% en la MS.

2.12. LOS FORRAJES TROPICALES

Es conocido, que la mayoría del área tropical de pastos, se encuentra ocupada por las sabanas. Las cuales ocupan 18.1 millones de km² en América, África y Australia, en donde existen prolongados meses de sequía y predominan los pastos naturales descubiertos, de porte bajo y cantidades limitadas de arbustos de poca altura. Las gramíneas más comunes son las pertenecientes a los géneros *Hyparhenia*, *Cymbopogo*, *Andropogon*, *Cynodon*, *Eragrotis* y *Paspalum* (Elías, 1983).

Estas especies, generalmente tienen un bajo valor nutritivo y su contenido de nutrientes es variable. Tienen un rápido crecimiento durante la época de lluvias, el cual se ve reflejado en la producción de materia seca, contrastando con la temporada de estiaje donde su desarrollo es más lento, además de presentar un bajo contenido de proteína, lo que repercute negativamente sobre el nivel de digestión y consumo. Estos forrajes tropicales son generalmente carentes de elementos minerales, tales como el molibdeno, selenio, azufre y fósforo, debido al nivel de acidificación de los suelos, lo que se refleja una baja digestión (Elías, 1983; Herrera, 1983).

Por otra parte, en las gramíneas tropicales la capacidad fotosintética es mayor que en las gramíneas templadas e incluso que en las leguminosas tropicales. Esto responde a tres factores principales: 1) el sendero de la fotosíntesis se produce por la vía C4 y no por

la C₃; 2) la falta de fotorespiración durante el proceso de fotosíntesis en presencia de luz, aunque la respiración en la fase oscura parece ser mayor en las gramíneas tropicales y 3) la actividad fotosintética se incrementa con la intensidad lumínica en las gramíneas tropicales llegando a ser el doble de la actividad de las templadas (Herrera, 1983).

Los forrajes tropicales son importantes fuentes de fijación de energía solar, la cual es transformada vía la fotosíntesis en otro recurso energético, como los azúcares estructurales de la pared celular, el cual puede ser liberado a través de la fermentación microbiana dentro del rumen y ser aprovechado en otros elementos de alto valor biológico (carne, leche, etc); sin embargo, para optimizar su utilización es necesario un manejo estratégico de la complementación alimenticia en los rumiantes. Que permite obtener niveles productivos de medianos a altos (Preston, 1995).

A continuación se presenta una breve recapitulación de los recursos forrajeros empleados en esta investigación.

El *Cynodon dactylon* o también conocido como pasto Bermuda es una gramínea perenne, de crecimiento semierecto, rizomatoso y estolonífero que lo hace extenderse con gran rapidez dentro y fuera del suelo, forma un césped denso. Los tallos alcanzan una altura de 50 a 70 cm presenta una elevada proporción de tallo/hoja, produciendo forraje de alta calidad. Este material se reproduce vegetativamente debido a que su semilla presenta baja fertilidad. Se adapta bien en regiones tropicales y subtropicales, con precipitaciones superiores a los 700 mm al año, y la temperatura sea de 24°C, se encuentra en muchos suelos principalmente donde el pH es superior a 5,5 y la fertilidad sea entre moderada y elevada. Es resistente al anegamiento temporal y a las sequías prolongadas, pero es improductiva. Responde bien a los fertilizantes (50 y 30 kilos de nitrógeno y fósforo, respectivamente).

Esta hierba no tiene aplicación en las praderas temporales, presenta cierta tolerancia a los suelos salinos y una presión de pastoreo moderada (FAO, 1982). Es necesario aplicar riego durante el periodo de sequía, con intervalos de 14 a 22 días y una lámina de 6 a 8 cm por riego. Su composición química varía según la época del año, el estado de madurez y el manejo productivo. Así pues, cuando el forraje es fresco y posee algunas semanas de edad (6-10 semanas), la concentración de proteína oscila en niveles de 9.9 a

17.6 y el nivel de fibra se orienta en niveles de 18.4% respectivamente. De esta forma, cuando el forraje ha alcanzado su estado máximo de madurez, registra niveles de 7.5 a 8% de proteína y 18.4% de fibra. De forma similar ocurre con los niveles de digestibilidad de la fibra oscilando entre 66.2 y 61.1% (FAO, 1982; González *et al.*, 2000).

La edad y otros factores influyen sobre la composición química de los pastos y el esté no es la excepción, en donde los niveles de proteína se deprimen de con respecto a la edad (4, 6 y 8 semanas) en niveles de 6.5, 6.4 y 5.6% respectivamente. Por otra parte, la cantidad de fibra se incrementa en rangos de 23.5, 23.7 y 24.8%, para las mismas edades (Herrera, 1983).

El *Panicum maximum* ó también conocido como Guinea, es una gramínea perenne matojosa, alta y vigorosa, con tallos de hasta 3,5 m de altura, crece en zonas donde las precipitaciones alcancen los 1000 a 1800 mm. Así como en una amplia variedad de suelos, tolera la sombra y el fuego, pero no el anegamiento ni las sequías rigurosas. Produce grandes cantidades de forraje apetecible que en promedio alcanzan las 34 t/ha (Eguiarte *et al.*, 1984); sin embargo, su valor nutritivo disminuye rápidamente con la edad, muere si es pastado continuamente al ras de suelo, y necesita reposar al final de la temporada vegetativa. Al manejo de segado responde mejor cuando alcanza 60 a 90 cm de altura, este momento coincide cuando el forraje es más nutritivo; sin embargo, el rendimiento se incrementa cuando el segado se realiza a una altura de 150 cm, para mantener el vigor de la pradera debe replantarse cuando menos una tercera parte de las plantas al año. La concentración de proteína y fibra oscilan en niveles de 14.3 y 24.1%, respectivamente. En condiciones de una hierba fresca, hasta niveles de 5.5 y 40.1% en materiales henificados. Asimismo, la digestibilidad de la proteína y fibra del pasto maduro en bovinos, se ha reportado en niveles de 60.3 y 53% respectivamente (FAO, 1982).

El contenido de proteína presentados por Eguiarte *et al.* (1984), contrasta con los aquí expuestos, siendo muy pobre, en niveles por debajo del 2%. Sin embargo, el nivel de la digestibilidad se mantiene de manera similar (60.9%). En este contexto, Cáceres *et al.* (1984) obtuvieron un nivel de PC superior al 7% con un material henificado, además de un contenido de MS el cual rebasó el 85%.

Este material forrajero ha sido utilizado en diversas investigaciones, con el objetivo de incrementar su calidad nutricional y fomentar la capacidad productiva de los rumiantes. De esta manera Brown y Adjei (1995), lograron incrementar su digestibilidad *in vitro* en rangos de 38.8, 41.7 y 42.0% con respecto al valor inicial 30.7%, esta respuesta se logró con un tratamiento de urea en niveles de 4, 6 y 8% respectivamente. Incorporando a la ración de borregos, material tratado con 6% de urea, en una proporción de 75 a 80%; obteniendo un incremento del 5.5% en la digestibilidad de la MO (66.7 vs. 63.2%) y de 13% en la digestibilidad de la hemicelulosa (79.8 vs. 70.4%).

El *Cynodon nlemfuensis* (pasto Estrella), es una especie perenne oriunda, principalmente, del África oriental y se distribuye no solo en países de este continente como Etiopía, El Congo, Angola, etc., sino también en otros países tropicales como Panamá, República Dominicana, Cuba, México y Puerto Rico; su crecimiento es desparramado con estolones fuertes, de rápido crecimiento formando un césped denso con alto rendimiento, y de gran distribución (Pereira *et al.*, 1986). Las cantidades de proteína y fibra, así como su digestibilidad pueden variar con respecto a la edad o con la frecuencia de corte. En este contexto Herrera (1983), reportó una variación el contenido de proteína de 6.63, 6.36 y 5.08% respecto a la edad del forraje (4, 6 y 8 semanas). Asimismo, Pereira *et al.* (1986) indicó que el contenido de PC disminuye con la edad de rebrote de este material. Reflejándose en los resultados que obtuvo, donde la PC osciló de 9.40 a 7.69% durante los 48 y 69 días de edad del rebrote. Asimismo, la cantidad de energía metabolizable (EM) disminuyó en niveles de 2.09 a 1.91 Mcal/Kg de MS, a las mismas edades. Por otra parte, el contenido de fibra se incrementó (26.8, 27.8 y 28.8%) para las mismas semanas de edad. Los valores de PC reportados por FAO en (1982) oscilaron entre 5.2 y 19.1%, para el contenido de fibra cruda (FC) fueron de 22.6 a 39.7%. Asimismo, la digestibilidad registró niveles de 58.5% y 62.7% para estas características, en un material fresco. Sin embargo, estos niveles se invirtieron negativamente cuando el forraje alcanzó un grado de madurez avanzada (23.0 y 39.9%).

Otra de las fuentes de forraje empleadas fue la *Brachiaria brizanta* ó también conocida como pasto Insurgente, el cual se caracteriza por ser una especie perenne, de hoja ancha, que puede alcanzar hasta de 2 m de altura. Rizomatosa ó estolonífera. Sus rendimientos son muy variables, en cuanto a pubescencia y hojiosidad, crece en la mayoría de los suelos, en terrenos abrigados con más de 750 mm de precipitación pluvial. Cuando el

manejo incluye el segado, solo rinde uno o dos corte ya que su recuperación es bastante mediocre. El contenido de proteína varía de 8 a 45% y el de fibra de 28 a 31%, dependiendo del estado de madurez. El porcentaje de digestión que alcanza este último elemento se presenta por encima del 56%, nivel característico de un forraje maduro (FAO, 1982).

Dentro de la caracterización de los tipos forrajeros empleados se destaca la presencia del *Penisetum purpureum* o también llamado pasto King Grass; Esta especie es una gramínea perenne alta, de porte erecto, con tallos gruesos hasta de 4.5 m de alto. Se encuentra en suelos húmedos de zonas con más de 1000 mm de precipitación anual. Tolera sequías breves, pero no el anegamiento, es una de las gramíneas forrajera más cultivadas rinde grandes cantidades de materia seca, pero su contenido de proteína es bajo, salvo cuando se corta muy tierna. En el manejo de esta especie no deben realizarse cortes demasiados bajos, nunca por debajo de los 15 cm.

Es importante buscar un equilibrio entre el rendimiento y la calidad nutritiva, ya que a mayor tamaño del pasto se obtienen mejores rendimientos pero de menor calidad y viceversa. Por ello se recomienda cortar el pasto cuando alcanza una altura de 1.6 a 2 metros, para obtener una buena producción, así como riqueza alimenticia. Con un buen manejo, se pueden obtener de 3 a 4 cortes al año. En la época de lluvias y con niveles altos de fertilización nitrogenada, los rendimientos se incrementan alcanzando en promedio 100 t/ha. Este forraje ha sido establecido en regiones de clima templado, obteniendo rendimientos excelentes de 143.3 t/ha (González y Eguiarte, 1997).

El forraje puede ofertarse en verde picado para que las hojas y tallos se mezclen bien, resultando en un alimento succulento para el ganado. Esta especie, al igual que otras gramíneas tropicales, se ve influenciada por el estado de madurez, disminuyendo la cantidad de proteína e incrementando los niveles de fibra. En este contexto, el contenido de proteína oscila entre 15.1% en una hierba fresca hasta 4.2% para una material maduro de porte alto y con un estado de madurez avanzada. De la misma manera, la cantidad de fibra se hace presente en niveles desde los muy favorables como 28.6% hasta por los desfavorables de 40% y más. Por otra parte, los niveles de digestibilidad reportados para el contenido de proteína superan el 40% y para la fibra llegan a ser de 56%. Cabe destacar que estas características se presentan en un material vegetal maduro (FAO,

1982, INIA, 1970).

Otro de los importantes materiales vegetativos de uso forrajero, sin lugar a dudas es el *Zea mays*. En este caso se hará mención particularmente sobre las características del material empleado como rastrojo; Es importante señalar, que esta especie es una gramínea que se cultiva donde quiera que los veranos sean relativamente cálidos, con frecuencia como cosecha intermedia. El forraje (tallos y hojas) se aprovecha en verde, en ensilaje o como rastrojo, siendo un recurso muy valioso para la alimentación de los rumiantes (FAO, 1982). En México se estima que la producción de rastrojo oscila alrededor de 14 y 18 millones de toneladas anualmente (Elizondo, 1998; Castañeda y Monroy, 1984). Las características químicas de este elemento, reportan niveles de proteína reducidos de entre 5 y 6%; además de registrar un elevado contenido de paredes celulares 78.5% y como consecuencia un reducido nivel de digestibilidad que oscila entre 48 y 55%. A su vez, se ha reportado un nivel de digestión del 56% para el contenido de proteína (Aguilera, 1988; FAO, 1982; Elizondo, 1998).

El rastrojo de maíz, junto a otros residuos agrícolas ha sido el material de estudio de muchas investigaciones que buscan incrementar su calidad nutricional. Es este contexto, Elizondo en (1998) realizó un tratamiento químico a este material empleando hidróxido de sodio (NaOH) al 4% y una solución de urea al 10%, con el objetivo de incrementar la degradación de los componentes de la pared celular; logrando un incremento del 7 y 16% sobre la digestibilidad de las porciones FAD y FND respectivamente, cuando se empleó el tratamiento con urea; asimismo, logró un incremento del 43% en la digestión de la MS (56.31 vs. 39.34%; $P < 0.05$) cuando se empleó del NaOH.

Por su parte, Kabantange y Shayo (1991), reportaron una degradabilidad *in situ* en el rastrojo de maíz de 27.3 % después de 24 horas de incubación, la cual presentó una mejoría del 66% cuando fue complementado con harina de hojas de *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*), logrando un efecto positivo sobre la función ruminal.

Ocen (1992), reportó un incremento la ganancia de peso en novillos alimentados con una dieta basal de rastrojo de maíz (357 g GDP), la cual fue complementada con urea, melaza, semilla de algodón y un forraje de mejor calidad como el *Penisetum purpureum*,

obteniendo un incremento sobre el consumo de materia seca (MS) del 37% (1.6 vs. 2.2 kg de MS/d). Esta mejoría se vio reflejada sobre la ganancia de peso, registrando un incremento del 100% respecto a la dieta basal (357 vs. 718 g GDP).

El último de los materiales forrajeros empleados en esta investigación fue el *Saccharum officinarum*, aunque cabe señalar que de esta únicamente se utilizó la porción más elevada conocida como puntas. Esta especie es clasificada como una gramínea perenne de 3m de altura, las cañas pueden tener 5-6 cm de diámetro y las hojas 0.5 a 1 m de largo. Se estima que la planta de caña de azúcar completa, aporta distintas proporciones de material vegetal útil generando hasta 30% de puntas, 60% de caña, 10% de hojas, así como una proporción de material procesado, del 10% como azúcar, 3% de melaza y 15% de bagazo (FAO,1982).

Dentro del material vegetal, considerado como residuos de la industria azucarera, se encuentran las puntas ó gocollos de la caña de azúcar, los cuales son generados durante la cosecha. Este material es empleado como recurso forrajero en la alimentación animal, el cual se puede incorporar en fresco o seco a la ración. Por si solo, puede aportar los nutrientes necesarios para el mantenimiento de los animales, pero si se desea utilizar para la producción es necesario añadir un complemento alimenticio. Las características químicas de las puntas han reportado un contenido proteico de 2 a 6%, aunado a un elevado tenor de fibra en niveles por encima del 42%. Otros de los elementos que enmarcan su caracterización, lo constituye el nivel de digestibilidad que registra el contenido de proteína, siendo de alrededor del 50% (FAO, 1982).

Por otra parte, este material ha sido empleado en varias investigaciones, entre las que se señalan las realizadas por Ferreiro y Preston en (1976) y por Ferreiro *et al.* (1977b; 1977a). Donde se probó la incorporación de las puntas de caña fresca sobre el consumo voluntario y el comportamiento animal, logrando un incremento del 38% en la ganancia de peso en novillos (605 vs. 839 g/d) y del 66% en el consumo de MS (4.52 vs. 7.50 kg de MS). Lo que trajo como consecuencia un efecto positivo sobre la producción animal.

Por su parte, Naseeven en (1986) reportó un incremento del 5% en la degradabilidad *in*

situ (48 horas) de la MS de las puntas de caña cuando se mezclaron con melaza y urea (49.9 vs. 52.4%) comparado al uso de puntas solas. Sin embargo, cuando se mezclaron únicamente con melaza la digestibilidad fue de 60.1%, representando un incremento del 20% respecto al tratamiento testigo.

2.13. COMPLEMENTACIÓN ALIMENTICIA EN EL RUMIANTE

La complementación alimenticia, en la nutrición de rumiantes, ha incorporando cada vez más productos y subproductos agropecuarios. Además de algunos forrajes alternativos (árboles y arbustos), provocando una mejora en la respuesta productiva en el animal (Preston, 1995; Sangines, 1998). La energía (zacates o melaza) y el nitrógeno fermentable (urea) han probado ser ingredientes de bajo costo, mientras que las fuentes de aminoácidos y componentes gluconeogénicos (los alimentos proteicos, los cereales) son caros (Leng, 1990). Los hidratos de carbono fermentables (la melaza) por ejemplo proveen la energía para la multiplicación microbiana, que permiten degradar la fibra. Es imperativo reconocer que el crecimiento del animal no puede ser sostenido por los productos de la fermentación digestiva, por lo que es imprescindible la utilización de proteína de sobrepaso para aprovechar la energía de los AGV absorbidos (Preston y Leng, 1987; Preston, 1995).

Una relación simbiótica entre los microorganismo ruminales y el animal (Ørskov, 1994), señala la necesidad de suplementar a la población microbiana ruminal, para incrementar su potencial fermentativo. Numerosos trabajos han estudiado las dietas basadas en forrajes, en las cuales la celulosa es el componente más abundante de la pared celular, por lo tanto los microorganismos ruminales celulolíticos, entre los cuales se encuentran un gran número de bacterias, hongos y protozoarios, jugando un papel primordial para la digestión de la fibra (Russel y Wilson, 1996; Weimer 1996; Fondevila y Dehority, 1996; Ørskov, 1994).

2.13.1. Hidratos de carbono de fácil fermentación

Se sabe que pequeñas cantidades de hidratos de carbono fácilmente fermentables, estimulan la fermentación de la celulosa, sugiriéndose una inclusión en la ración de 5 a 10%. Sin embargo cuando se administran grandes cantidades de estos azúcares,

provocan una disminución de la digestibilidad de la lignocelulosa, debido a que la población microbiana celulolítica, fermenta primero a los azúcares simples y coloca en segundo término los carbohidratos de la pared celular (Elías, 1983). En los países tropicales como Cuba, el uso de elementos no convencionales en la alimentación de los rumiantes cobraron gran importancia al incorporar algunos subproductos de la caña de azúcar como la melaza, su combinación con otros elementos, como la urea (25g de urea /kg de melaza), mostraron una mejoría en la actividad de los microorganismos ruminales (Preston, 1986).

En 1980, Sánchez y Preston, evaluaron la respuesta del jugo de caña y la melaza, con o sin la adición de urea, además de 1 kg de harina de girasol, en una dieta con pasto estrella, sobre la ganancia de peso en novillos, logrando un incremento de 1,300 sobre 525 kg/PV/día en el tratamiento sin urea. Otros trabajos han reportado el uso de la melaza como vehículo para la adición de urea en dietas basadas en caña de azúcar (Ferreiro y Preston, 1976; Montpellier y Preston, 1977; Meyreles *et al.*, 1982; Kunju, 1986). Sin embargo, la importancia en la utilización de este recurso se basa en el aporte de carbohidratos solubles, fácilmente fermentable en el rumen, indispensables para los microorganismos ruminales (Preston, 1995; Russel y Wilson, 1996).

2.13.2. El nitrógeno no proteico (NNP) y la pollinaza

El aporte de nitrógeno, es una parte muy importante dentro de la nutrición de los rumiantes, para la síntesis de proteína microbiana. El nitrógeno puede ser de origen dietario, del nitrógeno no proteico (NNP) externo o del nitrógeno de reciclaje endógeno. La proteína microbiana (PM) formada en el rumen, pasa hacia el intestino, representando el 70-90% de nitrógeno no amoniacal que penetra al intestino (Van Soest, 1982). La PM, puede verse afectada por la cantidad de energía (ATP) disponible para el crecimiento microbiano (Church, 1988). Las fuentes de NNP más económicas, han sido la urea y el amoníaco (en forma líquida o gaseosa), administrado en forrajes de baja calidad, incluyendo algunas sales amoniacales, así como el de origen endógeno, el cual es transferido hacia el rumen a través de la saliva. La adición de NNP en las dietas pobres en proteína como los forrajes tropicales, ha sido de gran importancia (Ferreiro y Preston, 1976; Montpellier y Preston, 1977; Meyreles *et al.*, 1982).

Estudios de Álvarez *et al.* (1976), adicionaron 1.0 kg/animal/día de pulidura de arroz a 30 toros Cebú con una dieta de caña de azúcar picada, adicionada con urea en tres concentraciones A, B y C (100, 200 y 248 g) en una proporción de 50 ml/kg de caña fresca, obteniendo un incremento en la ganancia de peso de 0.793, 0.796 y 0.833 kg/día respectivamente, demostrando la importancia de una fuente de almidón parcialmente protegida como proteína de sobre paso en la suplementación de los animales con nitrógeno no proteico. Otros elementos claves para el desarrollo bacteriano son los aminoácidos esenciales. La pollinaza es un subproductos de la industria avícola, fuente de nitrógeno amoniacal y ácido úrico como NNP (Oltjen *et al.*, 1968), la cual aporta aminoácidos indispensables (arginina, histidina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano y valina) o esenciales como la lisina y treonina (Zinn *et al.*, 1996). Como promotores de la síntesis microbiana ruminal. Zinn *et al.* (1996) mencionaron que estos últimos aminoácidos (lisina y treonina), no pueden ser sintetizados por el animal, ni su población microbiana, por lo tanto deben ser suministrados en la dieta.

Investigaciones de Zinn *et al.* (1996), realizaron una evaluación con pollinaza, en dietas para novillos, un incremento en el flujo de amoníaco y nitrógeno hacia el intestino delgado, estimado 22% de nitrógeno como sobre paso. La adición de pollinaza en la dieta no logró un incremento en el flujo de aminoácidos hacia el intestino; sin embargo, colaboró con la producción de proteína microbiana mediante su aporte de aminoácido en el rumen. Por otra parte Reddy en 1994, evaluó la complementación con pollinaza (500g/animal/día) y trigo (1.0 kg), sobre la cinética de desaparición de la materia seca en la paja de arroz, la cual incremento de 50.7 a 59.72%. Finalmente Swingle *et al.* (1977), reportaron un incremento en la digestibilidad aparente de la paja de trigo (68%), cuando se suplemento con pollinaza.

2.13.3. Proteína fermentable y de sobre paso

En los sistemas de alimentación para rumiantes se han incorporado nutrientes que escapan a la degradación ruminal (sobre paso) con la finalidad de incrementar la capacidad productiva de los rumiantes. En este contexto, Preston y Leng (1984) destacaron que el empleo de harinas de origen animal (pescado, carne, pluma, pollo, etc) y vegetal (torta de algodón, harinolina, polvillo o afrecho de arroz, maíz, soya, plátano); además del follaje de algunas leguminosas arbóreas (*Leucaena leucocephala*, *Gliricidia sepium*, *Brosimum*

alicastrum, *Guazuma ulmifolia*, etc) han incidido positivamente sobre los parámetros productivos, en el consumo y la digestibilidad de elementos forrajeros de baja calidad (Ku- Vera *et al.*, 1999).

Un alimento que ha tenido relevancia en la complementación alimenticia, ha sido la harina de pescado, debido a su baja degradabilidad ruminal (Lonsdale, 1989), dentro de sus características químicas se destaca un elevado contenido de proteína el cual oscila de 50 y 75%, y con un contenido de 23 aminoácidos; es rica en lisina (5.8%) y aminoácidos azufrados como la metionina y cistina; además de vitaminas y minerales (P, Ca, Na, Mg). Entre los principales aminoácidos se destacan: alanina, arginina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, fenilalanina, treonina, tirosina, valina, prolina y serina (Trabanco, 1985). La complementación con harina de pescado, ha producido un incremento en la respuesta productiva en novillos alimentados con ensilados de maíz y pastos (Cottrill, 1982; Garstang, 1981), así como con la utilización de pajas de arroz (Saadullah *et al.*, 1982).

Por su parte, Preston (1986) evaluó el efecto de la complementación con diferentes fuentes de proteína (harina de pescado, soya, girasol y algodón) sobre la ganancia de peso en novillos alimentados a base de forrajes de baja calidad; obteniendo resultados de 780, 770, 750 y 780 g/día, para pescado, soya, girasol y algodón respectivamente, comparados con 370 g/día sin complementación.

Otro elemento utilizado, ha sido la harina resultante del proceso de pulido del grano de arroz; los primeros trabajos se realizaron a finales de la década de los 70's; los cuales fueron generados en el trópico Mexicano encabezados por Preston y Álvarez, en la búsqueda por incrementar los parámetros productivos en los rumiantes. Muchos trabajos se realizaron utilizando como dieta basal el forraje de la caña de azúcar así como sus subproductos (López *et al.*, 1976). El pulido de arroz, es un elemento energético (2.8 Mcal/EM/kg de MS) y proteico (16.0%), un contenido de almidón de 310 g/kg/MS caracterizado como elemento de sobre paso (Lonsdale, 1989).

Preston *et al.* (1976), evaluaron la adición de la pulidura de arroz en niveles de 0 a 1.200 kg/animal/día, en 400 toros de cruce cebú con pardo suizo y holstein, incrementando la ganancia de peso en forma lineal, con respecto al nivel de

complementación; el consumo voluntario de la caña se incremento en 400%. Álvarez *et al.*, (1976) evaluaron la ganancia de peso en 30 novillo Cebú, con la incorporación de un 1.0 kg/animal/día de pulidura de arroz, en una dieta de caña de azúcar picada y urea; obteniendo resultados de 793, 796 y 833 g/día de ganancia de peso.

La incorporación de la harinolina (harina de algodón) en las dietas de los rumiantes, ha cobrado mayor importancia debido a su calidad proteica destacando su elevado porcentaje en aminoácidos esenciales (lisina, metionina, triptofano, histidina, tirosina y cistina), así como su capacidad de sobrepasar la digestión ruminal (Trabanco, 1985). Silvestre *et al.* (1976), determinaron el efecto en la ganancia de peso con dos niveles de maíz (0 y 1000g/día) con diferentes niveles y fuentes de proteína (harina de pescado y harinolina en 0, 75, 150 y 225 g/día respectivamente), con caña integral picada, adicionada con urea y sulfato de amonio, obteniendo una ganancia de peso por unidad de proteína suministrada en ausencia de maíz de 3.09 y 2.06 con harinolina y harina de pescado respectivamente, sugiriendo que la ventaja de la torta de algodón es por su contenido de almidón el cual actúa como precursor de la glucosa. El uso del maíz dentro de las dietas, ha probado ser un elemento de excelentes rendimientos, como lo reporta Silvestre *et al.* (1976). La complementación con maíz (1.0 kg), con distintas fuentes y niveles de proteína, registró un incremento en la respuesta productiva, siendo mayor para la harina de maíz, con ganancias de peso de 267 a 599 g/día en una relación de 0:150 y de 1.000:150g de maíz: pescado, la suplementación de maíz: torta de algodón. Se reportaron ganancia de peso de 77 a 472 g/día en una relación 0:75 y 1.000:75 g respectivamente.

2.13.4. Elementos álcalis y buffer

El aumento en el uso de alimentos concentrados, altos en granos, ha tenido un efecto metabólico al disminuir el pH ruminal causando trastornos de pared ruminal o acidosis, por ello a finales de la década de los 70's e inicios de los 80's, en los E.U; se realizaron investigaciones acerca de la adición de cemento y cal en las dietas para rumiantes, con el objetivo de elevar el pH, dentro del tracto gastrointestinal, los trabajos estuvieron encabezados por Wheeler y Oltjen en 1979, que incorporaron 3.5% de cemento en una dieta complementada con soya, logrando ganancias de peso de 1.520 kg en novillos. El nivel de pH en el rumen-retículo fue de 6.75 y 6.82 adicionando

cemento con o sin soya. Otros trabajos de Wheeler (1979) evaluaron el efecto de la adición de cemento sobre el porcentaje de desaparición de la materia seca, el cual se incrementó un 10.9% con respecto a las dietas sin cemento, el pH se mantuvo en un rango de 6.57-6.49, la concentración total de AGV's se aumento 119.6? M (P>0.05) con respecto 86.7? M en la dieta control. Noller *et al.* (1980) determinaron la capacidad del cemento para neutralizar los ácidos, caracterizando su actividad buffer debido a su habilidad para secuestrar protones (H⁺), la cual se favorece con la concentración de carbonato de calcio, siendo más reactivo a un pH 3.0 que a 6.0.

Wheeler *et al.* (1981) realizaron un estudio donde compararon el uso de la cal (1.6 - 1.8%) y el cemento (2.2 -2.0%), como elementos de similar rango de reactivada iónica dentro de los parámetros de producción en ganado de engorda, en el tracto gastrointestinal, utilizando dietas con altos niveles de concentrados (15.0% silo de maíz, 85% de concentrado), en los animales tratados se obtuvieron ganancias diarias de peso de 1.340 y 1.410 Kg respectivamente, el rango de pH en el rumen-retículo con cal y cemento osciló de 6.75 a 6.81 respectivamente. La digestibilidad de la materia seca fue alta (P<0.05) de 73.8 y 68.0% para la cal y cemento. El cemento ha destacado como un elemento tóxico debido a la presencia de plomo, arsénico, mercurio, cadmio o selenio, acumulándose en los tejidos. Sin embargo, Wheeler y Oltjen en (1979) realizaron un análisis en tejidos de corazón, hígado y riñón, en donde se encontró plomo en rangos de 0.2 -1.0, 0.80 -0.76 y 0.33 -0.38 ppm receptivamente, sin registrarse depósitos de arsénico o mercurio. Los niveles de selenio fueron de 1.17-1.21 en el riñón y de 0.33 -0.37 en el hígado, estos valores fueron considerados entre los rangos biológicos normales, de animales alimentados con dietas convencionales.

2.13.5. Minerales

El efecto de la complementación mineral en los microbios celulolíticos ruminales, es de suma importancia para la digestión de la fibra (Elías, 1983). La mayoría de la información ha sido generada en investigaciones *in vitro*, encontrándose que elementos como el molibdeno, yodo, magnesio, calcio, hierro, azufre y fósforo, incrementan la respuesta digestiva de la celulosa y hemicelulosa; Mientras que el boro, cobre, cobalto y el zinc la deprimen. Por otra parte, la adición de azufre (0.16 a 0.24%) y aminoácidos azufrados en todas sus formas (sulfato de sodio, sulfato de calcio, DL-

metionina y análogos de esta) en la dieta, favorece el crecimiento y la actividad de los microbios ruminales; mejorando el consumo, la digestibilidad y la retención del nitrógeno en animales alimentados con forrajes de baja calidad (Doyle, 1987; Aguilera, 1988; Elías, 1983).

2.14. METABOLISMO RUMINAL DE NITROGENO NO PROTEICO (NNP)

Para la síntesis de proteína en el rumen, es necesaria la presencia de suficientes compuestos carbonatados y fuentes de energía como el ATP, además de la presencia de fuentes de nitrógeno. Al respecto, los microorganismos ruminales utilizan en mayor proporción al nitrógeno más soluble (NNP), por lo cual su utilización dentro de las raciones tiene gran importancia en la nutrición de rumiantes (Bartley y Deyoe, 1981; Ørskov, 1982). Chalupa desde 1972, mencionó que los requerimientos de 44 especies bacterianas del rumen, dependían de la presencia de nitrógeno. De esta manera, se encontró que el 80% de estos microorganismos crecían con amoníaco como única fuente de nitrógeno; 26% no crecían en presencia de amoníaco, aun cuando existiera en mínimas cantidades y 55% crecían con amoníaco o nitrógeno amino. Las fuentes de nitrógeno no proteico que se emplean con mayor frecuencia en nutrición de rumiantes, incluyen sales orgánicas e inorgánicas de amonio, alimentos y subproductos agrícolas amoniatizados, biuret y urea (Wallace y Cotta, 1988). Estas investigaciones, mencionan que el amoníaco es fijado por las bacterias a través de dos enzimas: la glutamina sintetasa (GS) y la glutamato deshidrogenasa (GDH), para lo cual es necesario un mol de ATP por cada mol de ion amonio fijado (Wallace y Cotta, 1988; Church, 1988).

En el flujo ruminal, el amoníaco predomina en su forma ionizada (NH_4^+), cuando el pH es ácido. Sin embargo, cuando el medio es alcalino, el NH_3 está presente en su forma libre (no ionizada), siendo permeable a través de la mucosa ruminal, pero impermeable en la forma ionizada (Chalupa, 1977). Esto significa que cuando el pH es ácido, la poza de amoníaco puede ser mantenida para que se lleve a cabo la síntesis de proteína microbiana, pero si no hay disponibilidad de hidratos de carbono y energía las concentraciones de NH_3 se elevan a tal grado que el medio se torna alcalino, favoreciendo la presencia de la forma no ionizada del NH_3 ; por lo tanto, su absorción se incrementa y la síntesis de proteínas se deprime.

El amoníaco al absorberse se transporta al hígado, donde se metaboliza a urea a través del ciclo de Krebs-Henseleit; Aquí puede seguir dos caminos, uno donde parte de la urea se elimina por la orina y otra (aproximadamente el 20%), pasa al rumen en la saliva o por la vía de la difusión atenuada a través del epitelio ruminal, debido a un gradiente de concentración. La urea es hidrolizada rápidamente por la ureasa microbiana, una enzima intracelular estimulada por el magnesio, manganeso, calcio, estroncio y bario e inhibida por el sodio, potasio, cobre, zinc, cobalto y hierro (Chalupa, 1977).

Cuando la alimentación consiste en forrajes de baja calidad, con gran cantidad de compuestos lignocelulósicos, la producción de AGV's se retarda, los cetoácidos formados son limitados y por tanto, existe una gran pérdida de amoníaco a través del epitelio de la pared ruminal y la producción de aminoácidos se reduce. Por esta razón es importante un balance entre el amoníaco y los compuestos carbonatados (AGV's y CO₂). Sin embargo, existen requerimientos específicos por ácidos grasos volátiles de cadena ramificada (isobutirato y isovalerato) y por compuestos como el indol-3-acetato, 2 metilbutirato y fenilacetato, para la síntesis de aminoácidos específicos. Wallace y Cotta (1988), mencionaron que el amoníaco (NH₃) en el rumen comprende una poza de nitrógeno dinámica que es alimentada por varias fuentes:

- ✓ Degradación de proteína e hidrólisis del NNP de la dieta. Hidrólisis de la urea reciclada al rumen.
- ✓ Degradación del protoplasma microbiano y con diferentes destinos: Síntesis de proteína microbiana. Absorción ruminal.
- ✓ Tránsito al tracto digestivo posterior

La concentración óptima de amoníaco ruminal para el crecimiento microbiano, no es conocido con precisión, las estimaciones varían de 5 a 23 mg de NH₃ /100 ml de líquido ruminal (Bondi, 1981; Satter y Slyter, 1974) y una mínima de 2.2 mg NH₃/100 ml (Slyter *et al.*, 1979), Estos valores pueden ser controversiales, debido a que en recientes investigaciones, se menciona que es necesario un nivel mínimo de amoníaco en el rumen, para optimizar el consumo de forrajes de baja calidad oscila entre 100 y 200 mg NH₃ - N/l a través del crecimiento microbiano (Leng, 1991).

Las reacciones de aminación y transaminación son las responsables de la asimilación del amoníaco por la microbiota ruminal. La enzima deshidrogenasa glutámica, es muy importante para la fijación del NH_3 a los compuestos carbonatados y las transaminasas glutamato-oxalacetato y glutamato pirúvico. Los requerimientos energéticos para la síntesis de proteína microbiana son bastante elevados. Las reacciones entre los requerimientos energéticos expresados en términos de enlaces fosfato de alta energía (ATP) y la cantidad de proteína microbiana formada son:

Para unir NH_3 a compuestos carbonatados libres, se requieren de 3 moles de ATP. Para unir una molécula de aminoácidos a una proteína, se requieren 5 moles de ATP. Al hidrolizar anaeróbicamente 100g de glucosa, se producen 2 moles de ATP y 1 mol de AGV's.

El crecimiento microbiano es directamente proporcional a la cantidad de ATP generada del catabolismo de sustratos energéticos (Wallace y Cotta, 1988; Ørskov, 1982). El rendimiento microbiano por unidad de glucosa se divide en los componentes: rendimiento de ATP y del Y_{ATP} . El rendimiento de ATP son los moles de ATP formados a partir de la fermentación de una mol de glucosa, y el Y_{ATP} representa los gramos de materia seca microbiana sintetizada por mol de ATP, expresándose como gramos de proteína cruda microbiana o nitrógeno sintetizado por 100g de materia orgánica que desaparece en el rumen (Owens y Isaccson, 1977).

2.15. FERMENTACIÓN RUMINAL

Owens y Goetsch en 1988, mencionaron que en una dieta de forrajes del 50 al 80% de la energía metabolizable para el rumiante, proviene de los ácidos grasos volátiles (AGV's), estos son producidos por los microorganismos ruminales como productos finales de la fermentación de la digesta, son absorbidos en el rumen y una pequeña cantidad pasa al tracto gastro-intestinal inferior. Los principales AGV's son el acético, propiónico y butírico. El ácido propiónico y el butírico son metabolizados en la pared del rumen y pasan al tejido hepático. El propiónico es utilizado como un recurso primario en la gluconeogénesis. El ácido acético no es metabolizado en la pared ruminal, ni el hígado, pero es transportado al tejido adiposo y muscular para su oxidación (Maynard *et al.*,

1986).

El acetato es el producto final de la fermentación de la pared celular de los forrajes, consecuentemente el propiónico y butírico reflejan la fermentación de contenido celular. Los ácidos de cadena ramificada (valérico, isovalérico, isobutírico), son el resultado del rompimiento enzimático de la proteína de la dieta (Van Soest 1982; Ørskov, 1982). El amoníaco ruminal (NH_3) resulta de la acción proteolítica de los microorganismos, a partir del nitrógeno de la dieta, transformándolo en péptidos y aminoácidos. El amoníaco, constituye el primer recurso de nitrógeno para el 50 al 70% de los organismos ruminales (Arthun, 1989).

El pH ruminal óptimo para el crecimiento microbiano celulolítico según investigaciones de Mertens, 1977; Ørskov, 1982; Owens y Goetsch, 1988, oscila en un rango de 6.2 a 6.7; de ahí, que será de gran importancia el establecimiento de un pH adecuado para la proliferación de la microbiota celulolítica para una mayor actividad enzimática (Elías, 1983).

3.0. MATERIALES Y METODOS

3.1. Localización y duración del experimento

La investigación se ejecuto en la Finca Experimental “La María”, localizada en el km 7,0 de la vía Quevedo-Mocache; provincia de Los Ríos. Su ubicación geográfica es de 01° 6’ 20’’ de latitud Sur y de 79° 29’ 23’’ de longitud Oeste, a una altura de 73 msnm. El trabajo de campo tuvo una duración 150 días, entre los meses de noviembre 2010 hasta marzo 2011. Los análisis de laboratorio fueron realizados en la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), ubicada en la Panamericana Sur, km. 1,5 de la Ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo, a una altitud de 2740 msnm, 01°38’ de latitud Sur y 78°40’ de longitud oeste.

3.2. Condiciones meteorológicas

Las condiciones meteorológicas y otras características de la finca experimental “La María” se presentan en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Condiciones meteorológicas y otras características del lugar experimental. Fca. Exp. “La María”. UICYT, FCP. UTEQ

Datos meteorológicos	Valores medios
Temperatura.	24.7°C
Humedad relativa media.	84.3 (%)
Heliofanía.	72.5 horas luz/mes
Precipitación.	140.8 (mm. mensual)
Zona ecológica.	Bosque Húmedo Tropical (bh-T)

Fuente

3.3. Materiales, equipos y reactivos

Materiales

- ✓ 324 bolsas 460 UM.
- ✓ 1 botellón (Cap. 5 litros.).
- ✓ 1 pisceta (Cap. 500 ml.).
- ✓ Crisoles filtrantes o de Gooch.

- ✓ Crisoles filtrantes para celulasa.
- ✓ Tapones para crisoles para celulasa.
- ✓ Barras agitación magnética.
- ✓ Papel Parafilm Nesco.
- ✓ Sellador de fundas.
- ✓ Agitador magnético.

Equipos

- ✓ 4 toros Brahaman fistulados.
- ✓ Balanza analítica de 160 g de capacidad y de precisión de 0.1 mg.
- ✓ Incubadora a 39 °C, de temperatura.
- ✓ Estufa a 105 °C, de temperatura.
- ✓ Mufla a 600 °C, de temperatura.
- ✓ Desecador con silicagel como dessecante.

Reactivos

- ✓ Celulasa (*Trichoderma viride*) #39704 BDH.
- ✓ Acido acético al 96 % (CH_3COOH).
- ✓ Acetato de Sódio 3 águas ($\text{CH}_3\text{COOH Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$).
- ✓ Ácido clorhídrico (HCl).
- ✓ Pepsina Fluka 77160 de 796 UIP.
- ✓ Pepsina Fluka 77160 de de 2000 UIP.

3.4. Método para determinar la digestibilidad *in vitro* fluido ruminal

3.4.1. Principio

Este procedimiento es tomado de la técnica “*Tilley y Terry, 1963*” e involucra primeramente un periodo de incubación de 48 horas con microorganismos del rumen en un medio buffer y en segundo término, la digestión con una mezcla de ácido clorhídrico - pepsina. Las cantidades de materia seca (MS) o materia orgánica (MO) que desaparecen después de ambas etapas, se consideran como “*digeridas*” (Guevara, 2008).

3.4.2. Esquema del experimento en la digestibilidad (fluido ruminal)

En el Cuadro 9 se presenta el esquema de los tratamientos del experimento, donde se utilizaran cuatro toros Brahaman (repetición) en los cuales se introdujeron las muestras de residuos de maíz, arroz y soya bajo los tres formas de conservación (henificado, amonificado y ensilado), por cada residuo de cosecha se utilizaron tres bolsitas con dos gramos de alimento y se incubaron por 48 horas. Se realizaron tres corridas, en las semanas 1, 2 y 3, para el efecto se utilizaron 108 bolsitas en cada semana o corrida, dando un total 324 bolsitas.

Cuadro 9. Esquema para la digestibilidad *in vitro* con fluido ruminal de MS de los residuos de cosecha: arroz, maíz y soya (henificado, amonificado y ensilado) a las 48 h de incubación. Fca. Exp. “La María”. UICYT-FCP-UTEQ

Residuos	Método Conservación	No. Animal (repeticiones)	No. Bolsitas animal	No. Bolsitas Trat.	No. corridas	Total Bolsitas
Maíz	Henificado	4	3	12	3	36
Arroz	Henificado	4	3	12	3	36
Soya	Henificado	4	3	12	3	36
Maíz	Amonificado	4	3	12	3	36
Arroz	Amonificado	4	3	12	3	36
Soya	Amonificado	4	3	12	3	36
Maíz	Ensilado	4	3	12	3	36
Arroz	Ensilado	4	3	12	3	36
Soya	Ensilado	4	3	12	3	36
TOTAL			27	108		324

3.4.3. Análisis estadístico

En la técnica de digestibilidad *in vitro* con fluido ruminal, se dispuso de un diseño bloques completamente al azar (DBCA) en un arreglo factorial 3 (Residuos de cosecha) x 3 (Técnicas de conservación), con cuatro repeticiones, en el Cuadro 10 se presenta el esquema del ADEVA. Se bloqueo el peso de los toros.

Cuadro 10. Esquema del análisis de varianza para la digestibilidad *in vitro* con fluido ruminal de MS de los residuos de cosecha: arroz, maíz y soya (henificado, amonificado y ensilado) a las 48 h de incubación. Fca. Exp. “La María”. UICYT-FCP-UTEQ

Fuente de variación		Grados de libertad
Repetición	r-1	3
Residuos (A)	a-1	2
Técnica conservación (B)	b-1	2
Residuo x Técnica conservación (AxB)	(a-1) (b-1)	4
Error experimental	(ab-1) (r-1)	24
Total	(t.r-1)	35

3.4.4. Procedimiento de la digestibilidad *in vitro* con fluido ruminal

- ✓ Cuatro toros fistulados.
- ✓ Pesar fundas.
- ✓ Colocar alimento (2,0 g).
- ✓ Incubar 48 horas.
- ✓ Sacar bolsitas y lavar.
- ✓ Colocar en solución Pepsina + HCl (48 horas).
- ✓ Lavar fundas.
- ✓ Secar.
- ✓ Pesar.
- ✓ Extraer lo indigerido fundas.
- ✓ Colocar frascos plásticos.
- ✓ Determinar MS y MO.

3.5. Métodos para determinar la digestibilidad *in vitro* por celulasa

3.5.1. Principio

La muestra del alimento es tratado con una solución de Pepsina en ácido clorhídrico durante 24 horas en 39°C, seguido por calentamiento durante 45 minutos en 80°C. Después de la filtración el residuo es tratado con una solución de buffer de celulasa de *Trichoderma viride* durante 24 horas en 39°C. Finalmente, la suspensión es filtrada, secada e incinerada (Guevara, 2008).

3.5.2. Esquema del experimento en la digestibilidad *in vitro* (celulasa)

Se efectuó la primera fase de la técnica de Tilley y Terry (1963) para cuantificar la desaparición ruminal *in vitro* de MO de los residuos de cosecha de maíz, arroz y soya (henificados, amonificados y ensilados), para lo cual se colectó fluido ruminal de un toro brahman con canula ruminal y alimentado *ad libitum* con pasto saboya y balanceado. Las muestras de residuos se colocaron en tubos de polipropileno y se incubaron con la mezcla de saliva de McDougall + fluido ruminal en relación (4:1) durante 48 horas a temperaturas y pH similares a los del rumen (39°C y 6.8 respectivamente). En los cuadros 11 y 12 se presenta el esquema de los tratamientos del experimento y del análisis de varianza.

3.5.3. Procedimiento de la digestibilidad *in vitro* con celulasa

Este sistema de digestibilidad *in vitro* se basa en la primera etapa en una fermentación en un sistema cerrado, es decir, los productos de la fermentación no son removidos, en la primera etapa se adiciona una solución amortiguadora con el fin de mantener el pH en alrededor de 6.9, para que actúen las bacterias ruminales, especialmente las celulolíticas. En la segunda etapa de esta técnica se lleva a cabo una digestión con pepsina en medio ácido, añadiendo HCl. Esta etapa es comparativa a lo que sucede en el abomaso (Castellanos, *et al.*, 1990). Los principales pasos a seguir fueron:

- ✓ Obtención del inóculo.
- ✓ Mezclado de la solución amortiguadora y del inóculo.
- ✓ Pesar la muestra.
- ✓ Blancos y estándares.
- ✓ Inoculación.
- ✓ Agitación.
- ✓ Segunda etapa, HCl más Pepsina.
- ✓ Filtrado.
- ✓ Cálculo de la digestibilidad *in vitro* de la MS.

Cuadro 11. Esquema para la digestibilidad *in vitro* con celulasa de MS de los residuos de cosecha: arroz, maíz y soya (henificado, amonificado y ensilado). Fca. Exp. “La María”. UICYT-FCP-UTEQ

Residuos	Método Conservación	No. Crisoles (repeticiones)	No. Crisoles muestra	No. Crisoles Trat.	No. corridas	Total Crisoles
Maíz	Henificado	4	3	12	3	36
Arroz	Henificado	4	3	12	3	36
Soya	Henificado	4	3	12	3	36
Maíz	Amonificado	4	3	12	3	36
Arroz	Amonificado	4	3	12	3	36
Soya	Amonificado	4	3	12	3	36
Maíz	Ensilado	4	3	12	3	36
Arroz	Ensilado	4	3	12	3	36
Soya	Ensilado	4	3	12	3	36
TOTAL			27	108		324

Cuadro 12. Esquema del análisis de varianza para la digestibilidad *in vitro* con celulasa de MS de los residuos de cosecha: arroz, maíz y soya (henificado, amonificado y ensilado). Fca. Exp. “La María”. UICYT-FCP-UTEQ

Fuente de variación		Grados de libertad
Residuos (A)	a-1	2
Técnica conservación (B)	b-1	2
Residuo x Técnica conservación (AxB)	(a-1) (b-1)	4
Error experimental	ab (r-1)	27
Total	(tr - 1)	35

3.6. Análisis químico de los residuos de cosecha

Se realizó el análisis proximal de acuerdo a la AOAC (1984), La fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD). Ver Cuadro 13.

Cuadro 13. Composición química bromatológica de subproductos agrícolas henificados, amonificados y ensilados. Fca. Exp. “La María”. UICYT-FCP-UTEQ

Componentes	Técnicas de conservación								
	Henificación			Amonificación			Ensilaje		
	Arroz	Maíz	Soya	Arroz	Maíz	Soya	Arroz	Maíz	Soya
Humedad (%)	8,18	7,91	12,73	44,93	43,43	43,87	35,81	34,82	37,02
Materia seca (%)	91,81	92,1	87,27	55,07	56,57	56,13	64,19	65,18	62,98
Proteína cruda (%)	5,87	5,02	6,37	8,21	8,36	8,8	10,31	9,42	8,91
Extracto etéreo (%)	1,78	1,27	1,75	2,12	2,14	2,62	1,81	1,08	2,66
Fibra bruta (%)	38,84	40,50	51,29	34,73	39,23	56,31	31,3	37,71	58,52
Cenizas (%)	21,06	8,84	8,00	22,57	12,89	10,66	21,57	12,1	8,25
Materia orgánica (%)	78,94	91,16	92,00	77,43	87,11	89,34	78,43	87,9	91,75
ELN (%)	24,26	36,46	19,85	32,37	37,37	21,61	35,01	39,68	21,66
FDA (%)	56,01	55,06	62,16	57,09	54,95	68,62	51,57	52,32	60,69
LDA (%)	4,49	7,73	12,42	7,19	9,97	20,48	6,55	10,43	16,79

*Fuente: Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en Alimentos INIAP, Santa Catalina. Quito – Ecuador. 2010

4.0. RESULTADOS Y DISCUSION

En el Cuadro 14, se presentan los resultados expresados como porcentaje de materia seca (MS) para la digestibilidad *in vivo*, y para cada una de las técnicas evaluadas.

Cuadro 14. Valores de digestibilidad de la materia seca (%), *in vivo*, líquido ruminal-pepsina y pepsina-celulosa, para tres subproductos tropicales conservados (henificados, amonificados y ensilados). Fca. Exp. “La María”. UICYT-FCP-UTEQ

Subproductos conservados	Determinación de la digestibilidad		
	<i>In vivo</i>	<i>Líquido ruminal-pepsina</i>	<i>Pepsina-celulosa</i>
Henificados			
✓ Arroz	24,90	43,68	42,03
✓ Maíz	35,79	36,23	56,08
✓ Soya	28,28	53,09	31,29
Promedio	29,66	44,60	43,13
Amonificados			
✓ Arroz	28,91	71,57	44,65
✓ Maíz	35,22	71,86	49,36
✓ Soya	33,11	67,82	56,25
Promedio	32,41	70,42	50,09
Ensilados			
✓ Arroz	27,09	63,48	60,87
✓ Maíz	32,49	62,18	54,62
✓ Soya	26,05	58,12	56,25
Promedio	28,54	61,26	57,25

Los valores absolutos entre la técnica *in vivo* (30,20) son diferentes a los obtenidos con las técnicas líquido ruminal-pepsina (58,76) y pepsina-celulosa (50,16), presentándose una diferencia de 24,26 unidades aproximadamente con respecto a la técnica *in vivo*. Aceptándose la hipótesis “*El proceso digestivo de los rumiantes se puede reproducir in vitro, obteniéndose valores similares o superiores a los de la digestibilidad in vivo*”.

Estos resultados difieren con los de Jones y Hayward (1973), quienes notaron que la digestibilidad por el método de la celulosa fue numéricamente unas 25 unidades por debajo de los valores *in vivo*, para muestras de pastos de baja digestibilidad. Una observación muy similar presentaron Adegbola y Paladines (1977), donde la digestibilidad de la materia seca por el método pepsina-celulosa fue cuantitativamente unas 10 unidades por debajo de los valores *in vivo* para pastos de baja digestibilidad y de 17 a 20 unidades para pastos de alta digestibilidad.

Los bajos valores de digestibilidad en celulasa respecto a los obtenidos con la técnica de Tilley y Terry pueden estar afectados, más por la concentración del pretratamiento que por la concentración de la celulasa. Esto parece indicar el trabajo realizado por Allison y Borzuck (1978), citados por López y Roldan (1991), quienes con el uso de un pretratamiento fuerte (pepsina en HCl 0,125N), independiente de la calidad del pasto lograron incrementar los valores de la digestibilidad de la materia seca hasta los valores obtenidos por la técnica del líquido ruminal-pepsina.

Omed (1989), al comparar el método pepsina-celulasa, respecto al uso de dos métodos microbiales (líquido ruminal y heces), encontró que los valores de los métodos microbiales eran más cercanos a sus respectivos valores *in vivo*.

En el Cuadro 15, se presentan las ecuaciones de regresión obtenidas para las dos técnicas de digestibilidad *in vitro* frente a la digestibilidad *in vivo*.

Cuadro 15. Ecuaciones de regresión simple entre digestibilidad *in vitro* (x) e *in vivo* (y) para tres subproductos tropicales conservados (henificados, amonificados y ensilados) por medio de dos técnicas *in vitro*. Fca. Exp. “La María”. UICYT-FCP-UTEQ

Método	Sub. Prod. Cons.	Ecuación	R ² (%)
<i>Líquido ruminal-pepsina</i>	Henificados.	$Y = -18,68 + 62,45X - 12,49X^2$	99,79
	Amonificados.	$Y = 53,00 + 17,77X + 6,80X^2$	99,85
	Ensilados.	$Y = 74,77 - 24,68X + 5,99X^2$	98,32
<i>Pepsina-celulasa</i>	Henificados.	$Y = 16,44 + 48,02X - 11,37X^2$	85,58
	Amonificados.	$Y = -20,19 + 81,85X - 17,99X^2$	98,93
	Ensilados.	$Y = -44,70 + 103,58X - 22,65X^2$	99,29

R²: Coeficiente de determinación.

D.S: Desviación estándar.

De acuerdo al Cuadro 15, los coeficiente de determinación (R²), para las ecuaciones 1; 2 y 3 (técnica líquido ruminal-pepsina), indican que el 99,79; 99,85 y el 98,32% de la variación total de la digestibilidad *in vivo* esta explicada por el modelo; el resto, o sea el 0,21; 0,15 y 0,28% es la variación no explicada por la regresión.

En el caso de las ecuaciones 4; 5 y 6, los R² indican que el 85,58; 98,93 y 99,29% de la variación total de la digestibilidad *in vivo* esta explicada por el modelo, el 0,42; 0,07 y el 0,71% es la variación no explicada por la regresión. El intercepto presenta valores muy

diferentes para las dos técnicas, al compararlos por medio de la ANAVA, se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$). Sin embargo debe tenerse en cuenta que el intercepto no siempre tiene una interpretación práctica y algunas veces es solo un término de ajuste que permite representar la tendencia de los datos.

El coeficiente de regresión en este caso para las seis ecuaciones muestran valores cercanos a uno (1), los valores según la ANAVA, aceptándose la hipótesis ***“Los valores de digestibilidad in vitro de la MS de los residuos de cosecha están altamente correlacionados con los obtenidos mediante prueba de digestibilidad in vivo. Por consiguiente los métodos in vitro sirven para predecir la digestibilidad de la MS, MO, EB y la ED de los residuos de cosecha para la alimentación de rumiantes.*”**

El mayor R^2 de la primera ecuación, además del bajo valor de la desviación estándar, obtenidos en el presente trabajo para la técnica del líquido ruminal pepsina con respecto a la técnica pepsina-celulasa, coincide con los reportes de trabajos realizados para forrajes de zona templada por Terry *et al* (1978), Cerda *et al* (1989), Terramoccia *et al* (1989), también Alluzio *et al* y Antongiovanni *et al* citados por Antongiovanni y Acciaaoli (1995).

Sin embargo Peña y Paladines (1979) y Navaratne (1990), contrario a los resultados obtenidos en el presente trabajo, reportan valores más altos o iguales del coeficiente de determinación, así como desviaciones estándar más bajas para la técnica pepsina-celulasa al compararla con la técnica líquido ruminal-pepsina.

Para Troelsen y Hanel (1966), citados por Minson (1990), la variación encontrada en la actividad celulolítica del licor ruminal es un problema de la técnica. Este problema causa diferencias entre semanas en los valores obtenidos de digestibilidad *in vitro* (líquido ruminal-pepsina), Dansa y Deries (1984), citados por Minson (1990). Estos problemas pueden ser controlados usando más de un animal fistulado, estandarizando la dieta del animal donante y colocando estándares en todas las corridas. Giraldo (1996).

El método de Tilley y Terry se considera un método referente para calcular la digestibilidad en alimentos para rumiantes, el cual ha sido modificado y adaptado según el tipo de alimento a analizar, al igual que se han desarrollado y probado diferentes tampones de dilución para ajustar el pH del inóculo, Giraldo *et al* (2007).

Trabajando con dos forrajes diferentes como fuente de inóculo García y Sánchez (1988), concluyeron que la digestibilidad con licor ruminal, parece no estar afectada por la fuente del inóculo, siempre y cuando no existan grandes diferencias en la composición química entre ellos.

Algunos autores trabajando con leguminosas, mezclas de gramíneas y leguminosas, henos, ensilajes, pajas y subproductos agrícolas han encontrado una mejor confiabilidad de sus resultados con la técnica del licor ruminal que los obtenidos con la técnica pepsina-celulasa, es el caso de Terry *et al* (1978), Albuzio (1988), citado por Antongiovanni y Acciacioli (1995), Antongiovanni *et al* (1992), citados por Antongiovanni y Acciacioli (1995) y Navaratne (1990), Arce *et al* (2003). La técnica pepsina-celulasa parece ser más sensible a la variación de las especies forrajeras, además las celulasas comercialmente disponibles varían considerablemente en su capacidad digestiva Marten y Barnes (1979).

Para el grupo de subproductos evaluados en el presente trabajo, la técnica **Líquido ruminal-pepsina** fue más precisa al compararla con la técnica del licor ruminal-pepsina, al presentar un modelo más estable. Sin embargo fue menos exacta en vista de que se distanció más del valor real (*in vivo*), y su coeficiente de determinación (R^2), fue ligeramente superior con respecto a la técnica del licor ruminal.

López y Roldan (1991), consideran la validez y la aceptación del método pepsina-celulasa por su precisión en la predicción de la digestibilidad de la materia seca y también la alta repetibilidad y baja variabilidad de los resultados en el laboratorio.

Al igual que en la presente investigación, Arce *et al* (2003), al comparar los dos métodos encontraron que los valores de digestibilidad del método enzimático (pepsina-celulasa), fueron estadísticamente menores a los del método Tilley y Terry. Sin embargo, estos hallazgos podrían atribuirse, por un lado, a la riqueza del inóculo ruminal, donde actúan todo un conjunto de enzimas provenientes de los diferentes microorganismos (bacterias, protozoarios y hongos) que causan una mayor degradación de los forrajes, mientras que el método enzimático trabaja solo con celulosa proveniente de un hongo.

Pese a su exactitud, según Giraldo *et al* (2007), y a todas las modificaciones y adaptaciones el método Tilley y Terry sigue siendo un procedimiento que consume mucho tiempo y

trabajo, además cada alimento debe incubarse por separado, limitando el número de muestras a ser analizadas por corrida o tanda.

La fermentación *in vitro* de los forrajes mediante un inóculo de microorganismos ruminales presenta probablemente el mejor cálculo hecho en laboratorio sobre la digestibilidad *in vivo*. Sin embargo, los ensayos *in vitro* requieren una fuente uniforme y confiable de inóculo ruminal que a menudo es difícil de obtener. Los problemas que mayormente se presentan son: la variación en la actividad del fluido ruminal, variaciones incontrolables que se dan dentro del laboratorio y entre laboratorios, y la disponibilidad de animales ruminalmente canulados. Arce *et al* (2003).

Después de examinar la repetibilidad de los resultados obtenidos en un laboratorio y de la reproducibilidad de resultados logrados entre diferentes laboratorios, Antongiovanni y Acciacioli (1995), sugieren que dentro de los métodos *in vitro*, la técnica enzimática empleada por Jones y Hayward es la alternativa más válida a los análisis clásicos de Tilley y Terry.

Finalmente en pastos tropicales, varios autores también han encontrado una mayor precisión de la técnica pepsina-celulasa, para predecir la digestibilidad de la materia seca *in vivo*, es el caso de Adegbola y paladines (1977), Peña y Paladines (1979), Narváez y Lazcano (1989) y Navaretne (1990).

5.0. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En base a los resultados obtenidos se pueden establecer las siguientes conclusiones:

- ✓ La técnica líquido ruminal-pepsina fue más precisa al compararla con la técnica del licor ruminal-pepsina, al presentar un modelo más estable. Sin embargo fue menos exacta en vista de que se distancio más del valor real (*in vivo*), y su coeficiente de determinación (R^2), fue ligeramente superior con respecto a la técnica del licor ruminal.
- ✓ La técnica pepsina-celulasa presentó valores absolutos superiores con respecto a la digestibilidad *in vivo*.
- ✓ La técnica pepsina-celulasa parece ser más sensible a la variación de las especies forrajeras, además las celulasas comercialmente disponibles varían considerablemente en su capacidad digestiva.
- ✓ La mayor ventaja para la técnica pepsina celulasa en cuanto a su ejecución es obviar la necesidad de utilizar animales canulados y todo lo que ello implica, sin embargo la técnica Tilley y Terry presento un mayor coeficiente de determinación, es decir, más exactitud con respecto a los valores *in vivo*.

En base a las conclusiones se recomienda:

- ✓ Considerar a la digestibilidad *in vitro* como un método valido para estimar la digestibilidad *in vivo* en alimentos para rumiantes, por ser más precisas, rápidas y económicas.
- ✓ Utilizar la técnica *in vitro* (licor ruminal), por que parece no estar afectada por la fuente del inculo, siempre y cuando no existan grandes diferencias en la composición química entre ellos.
- ✓ Evaluar otros subproductos agrícolas y pecuarios aplicando las técnicas liquido ruminal-pepsina y pepsina-celulasa, para estimar la digestibilidad *in vivo* de los alimentos para rumiantes (vacunos, ovinos, caprinos).

6.0. BIBLIOGRAFIA

- Adegbola A., Paladines O. 1977. Prediction of digestibility on the dry matter of tropical forages from their solubility in fungal cellulase solutions. *Journal of the science of food and agriculture*. 28 (1): 775-785.
- Aguilera, B.A. 1988. Evaluación del efecto de la suplementación de rastrojo amoniado sobre la cinética ruminal y digestibilidad en borregos Pelibuey. Tesis Maestría. UNAM. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan, México: 142 pp
- Albersheim, P. 1975. The walls of growing plants. Ed. Scientific Amer. USA:232 pp
- Allden, W.G. 1981. Energy and protein supplements for grazing livestock. In: Molrey F. H. W. *Grazing animals*. Elsevier Scientific Pub. Co. New York, USA:289-307
- Allen, M.S. and Mertens, D.R. 1987. Evaluating constraints on fiber digestion by rumen microbes. *J. of Nutrition* 188: 261 -270
- Allison, D.W. 1969. Forage lignins and their relationships to nutritive value. Proc. Nat. Conf. For: Qual. Eval. Utilization. Nebraska Center for continuing education lincon. Nebraska, USA En: Elías, A. 1983. Digestión de pastos y forrajes Capitulo IV 187- 246 En: Los pastos en cuba. Ed. Instituto de Ciencia Animal. La Habana Cuba 675 pp
- Almanza, V.R. y Paretas, J.J. 1976. Efecto del fertilizante sobre la digestibilidad y valores nutritivos de la hierba pangola (*Digitaria decumbens*). II seminario internacional científico y técnico. EE.P.F. Indio Hatuey. Mantanzas Cuba: 17- 23 p
- Alvarez, F.J., Wilson, A., Sutherland, T.M. and Preston, T.R. 1976. Studies in urea utilization in sugar cane diets: Effect of different methods of incorporatin g urea in the ratio. *Tropical Animal Production* 1:186-192

- Antongiovanni M., Acciatoli A. 1995. Accuracy of estimates of *in vivo* digestibility values by means of *in vitro* laboratory techniques. *Zootécnica e nutrizione animale*. 21(1995): 47-50.
- Arce C, et al. 2003. Estudio comparativo de la digestibilidad de forrajes mediante dos métodos de laboratorio. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 14 (1): 7-12.
- Arelovich, H; Martinez, M; Rodrigo, B; Storm, A; Oyola, J. 2006. Tratamientos químicos de materiales de alto contenido de fibra para alimentación de rumiantes. Amonificación seca y húmeda con urea. Universidad Nacional del Sur. Departamento de Agronomía-CERZOS. San Andrés 800.8000 Bahía Blanca. Consultado el 16 de julio del 2010. Disponible en: <http://www.profertil.com.ar/investigaciones/INFORME%20TECNICO.pdf>.
- Arthun, D. 1989. Influence of forbs and shrubs on intake, digestibility, energy and nitrogen balance, ruminal fermentation and digesta kinetics in beef steers fed low-quality forages. Thesis Doctor of Philosophy in Animal Science. New Mexico State University, Las Cruces, New Mexico USA: 64 pp.
- Ayres J. 1991. Sources of error with *in vitro* digestibility assay of pasture feeds. *Grass and Forage Science*. 46: 89-97.
- Ayres J. 1991. Sources of error with *in vitro* digestibility assay of pasture feeds. *Grass and Forage Science*. 46: 89-97.
- Baldwin, E.E. and Allison, R.L. 1983. Metabolism of the rumen. *J. Anim. Sci.* 52 (2)
- Baldwin, R.L., Lucas, H.L. and Cabrera, R. 1970. Energetic relationships in the formation and utilization of fermentation end products. 319-334. In Phillipson, A.T. Physiology of digestion and metabolic in the ruminant. Ed. Oriel Press Limited. Wescastle. England.

- Barrios, A; Ventura M, 2002. Uso de la amonificación seca para mejorar la calidad del heno, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Maracaibo – Venezuela.
- Bartaburu, D; Montes, E; Pereira, M. 2010. Utilización de la paja de arroz en la alimentación animal. Alternativas tecnológicas para enfrentar situaciones de crisis forrajera. INIA. Consultado 11 de Junio del 2010. Disponible en: Bell, F. R. 1984. Aspects of ingestive behavior in cattle. *Journal of Animal Science* 59 (5):1369-1372.
- Bartley, E.E. and Deyoe, C.W. 1981. Reducing the rate of ammonia release by the use of alternative non- protein nitrogen source. In Recent developments in ruminant nutrition. Ed. Haresing, W. and Cole, D. J. A. Butterworths, London: 99-114.
- Bavera, G. 2001. Rastrojos y residuos en la producción de carne bovina. Méd. Vet., Profesor Titular Efectivo de Producción Bovina de Carne, Depto. Producción Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, provincia de Córdoba. República Argentina. Disponible en http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/a_curso_produccion_bovina_de_carne/00-curso_produccion_bovina_de_carne.htm
- Bergen, W.G. 1979. Factors affecting growth yields of microorganisms in the rumen. *Trop. Anim Prod.* 4: 13-20.
- Bondi, A. 1981. Metabolism of protein in ruminant animals. A review. *Nutr. Rep. Intern.* 23: 993-1002.
- Brow, W.F. and Adjei, M.B. 1995. Urea ammoniation effects on the feeding value of Guinea grass (*Panicum maximum*) hay. *J. Anim. Sci.* 73: 3085-3093.
- Bryant, M.P. and Robinson, I.M. 1961. *J. of Dairy Sci.* 42: 1823 En Elías, A. 1983. Digestión de pastos y forrajes Capítulo IV 187- 246 En Los pastos en Cuba. Ed. Instituto de Ciencia Animal. La Habana Cuba: 675 pp

- Buttery, P.J. 1981. Aspects of the biochemistry of rumen fermentation and their implication in ruminant productivity. In Haresign, W. and Cole, D. J. A. Recent developments in ruminant nutrition. Ed. Butterworths, London. England. 140-156 p.
- Cáceres, C. y Santana, H. 1988. Influencia de la edad de cosecha sobre valor nutritivo y rendimiento de nutrimentos de tres gramíneas forrajeras. *Pastos y Forrajes* 11: 183-189.
- Cáceres, C., Esperance, M. y Oramas, J. 1984. Valor nutritivo del heno de hierba Guinea. *Pastos y Forrajes* 7: 241-260
- Calle B. 2000. Correlación de la digestibilidad aparente in vivo y la digestibilidad in vitro en pepsina celulasa en gramíneas tropicales. Medellín. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. p 48.
- Castañeda, F.E. y Monroy, A.J. 1984. Métodos de procesamiento de subproductos agrícolas para elevar su valor nutricional. Memorias del seminario. Utilización de subproductos agroindustriales en la alimentación de rumiantes. Instituto de enseñanza e investigación científica. México D, F: 26-50.
- Castellanos, A.; Llamas, G., y Shimada, A. 1990. Manual de Técnicas de investigación en Rumiología. México, 267 p.
- Cerda A, et al. 1989. Comparative study and validation of three methods to estimate apparent digestibility of forages. *Proceedings of the XVI International Grassland Congress*. Nice, France. (1989):901-902.
- Chalupa, W. 1972. Metabolic aspects of non-protein utilization in ruminant animal. *Fed Proc.* 31: 1152-1164.
- Chalupa, W. 1977. Manipulating rumen fermentation *J. Anim. Sci.* 43: 824-834.
- Chesson, A. and Forberg, C.W. 1988. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. 251-284 In Hobson, P. N. The rumen microbial ecosystem.

Ed. Elsevier Applied Science. New York, USA: 527 pp

Chesson, A. and Forberg, C.W. 1988. Polysaccharide degradation by rumen.

Church, C.D. 1988. El Rumiente Fisiología Digestiva y Nutrición. Ed. Acribia.
Zaragoza, España: 641 pp

CORPOICA, 2006. Manejo y uso de subproductos agrícolas y plantas forrajeras para alimentación de bovinos (en línea). CORPOICA - Centro de Investigación Turipaná. Consultado el sábado 24 de febrero de 2007. Disponible en <http://www.corpoica.com>.

Cottrill, B.R., Beever, D.E., Austin, A.R. and Osbourn, F. 1982. The effect of protein -and non-protein - nitrogen supplements to maize silage on total amino acid supply in young cattle. British J. of Nutrition 48: 127-130.

Cruz, F. 2007. La amonificación de paja para la alimentación de rumiantes. Torreón. Disponible en: <http://www.elsiglodetorreon.com.mx/noticia/289845.bien-chiva-agropecuaria.html>

Das, M.M. and Kundu, S.S. 1994. The effects of calcium hydroxide, urea, and calcium hypochlorite treatments on composition and degradability of wheat straw. Indian. J. Dairy Sci. 47:59-61.

Dehority, B.A., Johnson, R.R., Bantley, O.C. and Moxon A.L. 1958. Arch. Biochem. Biophys. 78: 15 En Elías, A. 1983. Digestión de pastos y forrajes Capítulo IV 187-246 En Los pastos en cuba. Ed. Instituto de Ciencia Animal. La Habana Cuba: 675 pp

Doyle, P.T. 1987. Supplements other than forages. 429-464. In Hacker, J.B. and Ternouth, J. H. 1987. The nutrition of herbivores. Ed. Academic Press. Australia: 552 pp

Eguiarte, V.J.A., Carrete, C.F.O., Sánchez, A.R., Rodríguez, P.C. y Hernández, G.F.

1984. Los pastos tropicales son fuente importante para la alimentación del ganado. Folleto técnico No. 20. Centro de investigaciones pecuarias del estado de Jalisco (CIPEJ), México: 16 p.

Elías, A. 1983. Digestión de pastos y forrajes Capitulo IV 187-246 En Los pastos en Cuba. Ed. Instituto de Ciencia Animal. La Habana Cuba: 675 pp

Elizondo, E.I. 1998. Evaluación de tratamientos alcalinos sobre la calidad nutricional de subproductos lignocelulosicos. Tesis Doctorado. PICP. FMVZ. Universidad de Colima. Colima, Col. México: 111 pp.

Ellis, W.C., Matis, J.H. and Lascano, C. 1979. Quantiting ruminal turnover. Federation Proceedings. 38:2702-2706 .

Faichney, G.J. 1975. The use of markers to partition digestion within the gastro-intestinal tract of ruminants. In McDonald, I. W. and Wamer. Phisicology and Metabolism in the Ruminant. Ed. A.C.I. University of New England, Armidale: 277-291.

Faichney, G.J. 1993. Digesta flow. In Forbes, J. M. and France, J. Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism. CAB International 53-85.

FAO. 1982. Piens os tropicales: resúmenes informativos sobre pienso y valores nutritivos. Ed. FAO. Roma Italia: 550 pp

Ferreiro, H.M. and Preston, T.R. 1976. Fattening cattle with sugar cane: The effect of different proportions of stalks and tops. Trop. Anim. Prod. 1:178-185.

Ferreiro, M.H. y Preston, T.R. 1977. Digestibilidad y consumo voluntario en tallo de caña descortezado con la adición de puntas. Prod. Anim.Trop.2:93-103.

Flores, J. 1987. Manual de Alimentación Animal. Primera Edición. México. Editorial Ciencia y Técnica. México. D.F. p. 1096.

- Fondevila, M. and Dehority, B.A. 1996. Interaction between *Fibrobacter succinogenes*, *Prevotella ruminicola* and *Ruminococcus flavefaciens* in the digestion of cellulose from forages. *J. of Anim. Sci.* 74:678-684.
- Gallardo, M; Gaggiotti, M. 2003. Cómo utilizar la soya y sus subproductos en la alimentación del ganado. INTA. EEA. Rafaela. Consultado el 11 de junio del 2009. Disponible en: http://www.produccionbovina.com/produccion_y_manejo_reservas/reservas_en_general/27-como_utilizar_soja_y_subproductos.pdf.
- Gane, G; Flores, J; Horacio, D. 2009. Mejoramiento de la calidad del heno de paja de arroz con tratamiento alcalino. Estación Experimental Agropecuaria de Mercedes, Corrientes. INTA Argentina. Consultado el 16 de Julio del 2010. Disponible en: <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-carne/nutricion/articulos/mejoramiento-calidad-heno-paja-t2372/141-p0.htm>
- García G., Sánchez D. 1985. Utilización de dos forrajes como Fuentes de inóculo en una prueba de digestibilidad in vitro. Medellín. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. p 65.
- Garstang, J. R. 1981. Silage supplements for calves. *Anim. Prod.* 32: 355-360.
- Gélvez, L. 2009. Animales y Producción. Ingeniería de Producción Animal Egresada de la Universidad Nacional Experimental del Táchira. Cordero, Estado Táchira-Venezuela. Consultado el 18 julio de 2009. Disponible en: http://mundopecuario.com/tema61/nutrientes_para_rumiantes/maiz_paja-336.html
liliandamarys@gmail.com.
- GER, 1991. Arroz I. Biología. Gran Enciclopedia Rialp. Madrid – España. Consultado 12 de abril. 2006. Disponible en [http:// www.canalsocial-enciclopedia GER.pdf](http://www.canalsocial-enciclopedia GER.pdf).
- Giraldo L, et al. 2007. Comparación de dos técnicas in vitro e in situ para estimar la digestibilidad verdadera en varios forrajes tropicales. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 20 (2007): 269-279.

- Giraldo, L. 1996. Manejo y utilización sostenible de pasturas. Medellín. Universidad Nacional de Colombia, p 359.
- Givens, D.I.; Cottyn, B.G.; Dewey, P.J.S. and Steg, A. 1995. A comparison of the neutral detergent-cellulase method with other laboratory methods for predicting the digestibility in vivo of silages from three European countries. *Animal Feed Science and Technology*. 54: 55-64.
- Godoy, S. Chicco, C. 1997. Utilización de la paja de arroz con y sin amonificación en la alimentación de bovinos de carne. FONAIAP-CENIAP. Área Universitaria UCV, El Limón, Maracay, Venezuela. Consultado el 24 de julio de 2009. Disponible en: http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/ZootecniaTropical/zt1501/texto/arroz.htm
- Goering, H.K. and Van Soest, P.J. 1970. Forage Fiber Analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). United States Department of Agriculture, agriculture handbook *no.* 379. Agricultural Research Service, Washington, D.C. USA:
- González, S.A., Yáñez, M.A. y González. E.L.A. 2000. Avances de la validación y transferencia de tecnología pecuaria en los GGVATT'S de Colima. Colima, México: 64 pp
- González, S.A. y Eguiarte, V.A. 1997. Introducción y adaptación de forrajes perennes de corte en clima templado. Décimo aniversario de avances de investigación Trópico 97. 13 y 14 de noviembre Barra de Navidad, Jalisco. México: 174-178.
- Grupo Latino, 2004. Manual del Ganadero Actual Tomo II. grupolatino@etb.net.com. p. 1204.

- Haddad, S.G., Grant, R.J. and Klopffestien, T.J. 1995. Digestibility of alcalitreated wheat straw measure in vitro or in vivo using Holstein heifers. *J. Anim. Sci.* 73:3258-3265.
- Harrison, D.G., Beever, D.E., Thomson, D.J. and Osbourn, D. E. 1975. Manipulation of rumen fermentation in sheep by increasing the rate of flow water from the rumen. *J. Agric. Sci. Camb.* 85:93-101.
- Harrison, D.G., Beever, D.E., Thomson, D.J. and Osbourn, D. E. 1976. Manipulation of fermentation in the rumen. *J. Sci. Feed Agric.* 27:617-620.
- Hennessy D.W and Williamson, P.J. 1983. The role of energy or protein-rich supplements in the subtropics for young cattle consuming basal diets the are low in digestible energy and protein. *J. Agri. Sci.* 100: 657.
- Herrera, R.S. 1983. La calidad de los pastos. Capitulo III 60- 109 En: Los pastos en cuba. Ed. Instituto de Ciencia Animal. La Habana Cuba 675 pp
- Hungante, R.E. 1966. The rumen and its microbes. Academic Press. New York, USA:
- INIA.1970. Los forrajes tropicales y su aprovechamiento. Campo agrícola experimental Cotaxtla. Veracruz, Ver. México 19 pp.
- Jones D., Hayward M. 1973. A cellulasa digestión technique for predicting the dry matter digestibility of grasses. *Journal of the science of food and agriculture.* 24 (1973):1419-1426.
- Jones D., Hayward M. 1975. The effect of pepsin pretreatment of herbage on the prediction of dry matter digestibility from solubility in fungal cellulose solutions. *Journal of the science of food and agriculture.* 26 (1975): 711-718.
- Jones D., Hayward M. 1975. The effect of pepsin pretreatment of herbage on the prediction of dry matter digestibility from solubility in fungal cellulose solutions. *Journal of the science of food and agriculture.* 26 (1975): 711-718.

- Julier, B., M. Lila, V. Furstoss, V. Travers, y C. Huyghe. 1999. Measurement of cell-wall digestibility in lucerne using the filter bag technique. *Animal Feed Science and Technology*. 79:239-245.
- Jung. H.G. and Fahey, G.C. 1983. Nutritional implication of phenolic monomers and lignin. *Review. J. Anim. Sci.* 57: 206-219.
- Kabatange A.M. and Shayo, C.M. 1991. rumen degradation of maize stover as influenced by *Leucaena* hay supplementation. *Livestock Research for Rural Development* 3 (2) 1-3. Obtenido en la red mundial el 20 de octubre del 2000: <http://www.cipav.org.co>
- Kempton, T.J., Nolan, J.V. and Leng, RA. 1977. Principles for the use of nonprotein nitrogen and by-pass protein in diets for ruminants. *World Anim. Revi.* 22:2-9.
- Kotb. A.R. and Luckey. T.D. 1972. Markers in Nutrition. *Nutrition Abstracts and Reviews*. 42 (3):813- 844. Kunju, P.J.G. 1986. Urea molasses block lick: A feed supplement for ruminants. In *Rice and Related feeds in Ruminants Rations*. Ibrahim and Schiere, Editors. Wageningen, Pudoc, Netherlands:261 - 274.
- Ku - Vera, J.C., Ramírez-Avilés, L., Alayón- Gamboa, V., Valdivia- Salgado, L., Ramírez- Cancino, G., Jiménez-Ferrer and Pérez-Luna, E. 1999. Nutritive Value of Tropical Trees and Shrubs for Ruminants. *Oklahoma State Educational Course Stilwater*. March 9. 1-6 pp.
- Kunju, P.J.G. 1986. Urea molasses block lick: A feed supplement for ruminants. In *Rice and Related feeds in Ruminants Rations*. Ibrahim and Schiere, Editors. Wageningen, Pudoc, Netherlands: 261 -274.
- Lehninger, A.L. *Bioquímica*. 2^a Ed. Ediciones Omega. Barcelona, España: 1117 pp.

- Leng, R.A. 1990. Factors affecting the utilization of “poor quality “ forages by ruminant animals particularly under tropical conditions. *Nutritional Research Reviews* 3:277-303.
- Leng, R.A. 1970. Formation and production of volatile fatty acids in the rumen. 406-421. In Phillipson, A. T. *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant*. Ed. Oriel Press Limited. Newcastle, England.
- Leng, R.A. 1991. Application of biotechnology to nutrition of animals in developing countries. *FAO Animal Production and Health paper* 90. Roma, Italia: 146 pp.
- Lonsdale, C. 1989. *Straights. Raw materials for animal feed compounders and farmers*. Ed. Chalcombe, Great Britain: 88 pp
- López H., Roldan M. 1991. Estandarización del método de la celulasa para la determinación de la digestibilidad in vitro. Medellín. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. p 44.
- López, J.M., Preston, T.M., Surherland, T.M. and Wilson. A. 1976. Rice polishings as a supplement in sugarcane diets: Effect of level of rice polishings in wet and dry season conditions. *Trop. Anim. Prod.* 1: 164-171
- Manterola, H y Mira, J. 1999. “Los residuos agrícolas y su uso en la alimentación de rumiantes”, Fundación para la Innovación Agraria del Ministerio de Agricultura. Santiago, Chile. p. 222.
- Manyuchi, M. S. and Smith, T. 1994. Effect of treating or supplementing maize stover with urea on its utilization as feed for sheep and cattle. *Anim Feed Sci. Technol.* 49: 11-23.
- Marshall D, *et al.* 1997. Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. *Journal of Animal Science.* 75(1997): 2256-2276.

- Marten G., Barnes R. 1979. Prediction of energy digestibility of forages with in vitro rumen fermentation and fungal enzyme systems. *Workshop standardization of analytical methodology for feeds*. Ottawa. Memory p 61-71.
- Marten, G.C.; Goodrich, R.D.; Schmid, A.R.; Meiske, J.C.; Jordan, R.M. and Linn, J.G. 1975. Evaluation of laboratory methods for determining quality of corn and sorghum silages: II Chemical methods for predicting in vivo digestibility. *Agron. J.* 67: 247-251.
- Matsui, H., Ushida, K., Miyazaki, K., Kojima, Y. 1998. Use or ration of digested xylan to digested cellulose (X/C) as an index of fiber digestion in plant cell-wall material by ruminal microorganisms. *Anim. Feed Sci. Technol.* 71: 207-215.
- Maynard, A.L., Loosli, K.J., Hintz, F.H. y Warnae, G.R. 1986. *Nutrición Animal*. Ed. Mac Graww Hill, México
- Mertens, D.R. 2000. Interpretation of Forage Analysis Reports. 30th National alfalfa symposium. Las vegas, NV.
- Mertens, D.R, 1977. Dietary fiber components: Relationship to the rate and extent of ruminal digestion. *Feed Prod*: 36: 187-195.
- Meyreles, L., Pound, B. y Preston, P.T. 1982. Uso de la leucaena o cogollo de caña como fuente de forraje en dietas de melaza/urea, suplementadas con gallinaza y/o afrecho de trigo. *Prod. Anim. Trop.* 7:98-103.
- Minson D. 1990. *Forage in ruminant nutrition*. San Diego. Academic Press. P 483.
- Montpellier, F.A. y Preston, R.T. 1977. Digestibilidad de punta, corteza, tallo descortezado y caña de azúcar integral. *Prod. Anim. Trop.* 2: 13-17.

- Narváez V., Lazcano C. 1989. Digestibilidad in vitro de especies forrajeras tropicales. *Pasturas tropicales*. 11 (1): 13-18.
- Naseeven, M.R. 1986. Sucarne tops as animal feed. Sugarcane. Proceeding of an FAO expert consultation held. 7 -11 July Santo Domingo, Dominican Republic: 106-122 p
- Navaratne H, *et al.* 1990. Comparison of four techniques for predicting digestibility of tropical feeds. *Animal feed science and technology*. 29 (1990):209-221.
- Noller, C.H., White, J.L. and Wheeler, W.E. 1980. Characterization of cement kiln dusts and Animal Response. *J. of Dairy Sci.* 63:1 947-1952.
- Ocen, W.G. 1992. Performance of cattle give crop residues supplemented with high-quality forages and agro-industrial by-products. *Livestock Research for Rural Development* 1 (4) 1-8. Obtenido en la red mundial el 20 de octubre del 2000: <http://www.cipav.org.co>
- Oltjen, R.R., Slyter, L., Kozak, A.S. and Williams, E. 1968. Evaluation of urea, biuret, urea phosphate and uric acid as NPN sources for cattle. *J. of Nutr.* 94:193-202.
- Omed H. 1989. A comparison of three laboratory techniques for the estimation of the digestibility of feedstuffs for ruminants. *Journal of Agricultural science*. 113 (1989): 187-194.
- Orion Research, Inc. 1997. Ammonia electrode (NH₃). Model 95-12. USA: 37 pp.
- Ørskov, E.R. 1982. Protein Nutrition on Ruminants. Academic Press New York, USA: 160 pp
- Ørskov, E.R. 1994. Recent advances in understanding of microbial transformation in ruminants. *Livestock Production Sci* 39:53-60.

- Ørskov, E R. 2000. The in situ technique for the estimation of forege degradability in ruminants. Pages 175-188. In Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. D. I. Givens, E. Owen, R. F. E. Axford y H. M. Omed, ed. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Ørskov, E R, Hovell, F D, De, B and Mould, F. 1980. The use of nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Trop. An. Prod.*. 5: 195-213.
- Owen, F.N. and Goetsch, A.L. 1988. Rumen fermentation. In: Church D.C. The Ruminant Animal. Practice Hall. New Jersey, USA: 145-171.
- Owen, F.N. and Isaccson, H.R. 1977. Ruminant microbial yields: Factors influencing synthesis and bypass. *Fed Prodc.* 36: 198-202.
- Pasturas de América. 2006. Residuos del cultivo de maíz. Consultado el 18 de julio 2009. Disponible en: http://www.engormix.com/residuos_cultivo_maiz_s_articulos_775_AGR.htm.
- Peña M., Paladines O. 1979. Digestibilidad de la material seca de forrajes tropicales usando el método de solubilidad en pepsina-celulasa. *Turrialba*. 29 (3):189-194.
- Perdock, H. 1992. Boletín divulgativo sobre nutrición animal. Editado por proyecto MEGALIT. p. 7.
- Pereira, E., Cáceres, O., Santana, H. y Días, D. 1986. Consumo y digestibilidad del pasto Estrella cv. Tocumen a diferentes edades. *Pastos y Forrajes* 9: 161-165
- Preston, R.T. 1986. Molasses as animal feed: An overview. Sugarcane. Proceeding of an FAO expert consultation held. 7- 11 July Santo Domingo, Dominican Republic: 198-214.
- Preston, R.T., Carcaño, C., Alvarez, J.F. and Gutiérrez G.D. 1976. Rice polishings as a supplement in a sugar cane diet effect of level of rice polishings and of processing the sugar cane by derinding or chopping. *Trop. Anim. Prod.* 1:

150-162.

- Preston, T.R. 1995. Tropical Animal Feeding. A manual for research workers. FAO Animal Production and Health Paper 126. Rome, Italy: 305 pp
- Preston, T.R. y Leng. R. 1984. Supplementation of diets based on fibrous residues and byproducts In: Straw and Other Fibrous Byproducts as Feed (Sundstol and Owen, editors). Elsevier Press: Amsterdam, Netherlands :373-413.
- Reddy, 1994. Effect of supplementation of caged poultry droppings and wheat bran on rumen degradation kinetics and nutrient utilization in buffalo calves fed rice straw. Indian J. of Anim. Sci. 64 (12): 1388-1389.
- Rodríguez J, *et al.* (2002). Análisis estadístico de experimentos de digestibilidad *in vitro* con forrajes. *Interciencia*. 27(3):143-146.
- Russell, J. and Wilson, D. 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH. J. of Dairy Sci 79:1503-1509.
- Saadullah, M., Haque, M. and Dolberg. F. 1982. Effect of fish meal on growth of Zebu cattle calves fed on a basal diets of urea-treated rice straw. Trop. Anim. Prod. 7: 187-190
- Sánchez, A. 2009. Valoración nutritiva y respuesta productiva de las pancas de maíz y arroz en ovinos tropicales mestizos estabulados, en el cantón Quevedo. Tesis Postgrado. Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
- Sánchez, M. y Preston, R.T. 1980. Jugo de caña de azúcar como alimento bovino: Comparaciones con la melaza en la presencia o ausencia del suplemento proteico. Prod. Anim. Trop. 5: 127-134.
- Sánchez, R. 2003. Cría y mejoramiento del ganado ovino. Colección granja y negocios. Lima – Perú. p. 39 – 45.

- Sangines, G.L. 1998. Efecto de la suplementación de *Atriplex canescens* sobre la cinética ruminal y digestibilidad en borregos. Tesis Maestría. UNAM. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, México: 89 pp
- Satter, L.D and Slyter. L.L.1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein in vitro. Br. J. Nutr. 32: 199-208.
- Silvestre, R., MacLeond, N.A. y Preston, T.R. 1976. Suplementación de la caña de azúcar/urea para ganado en crecimiento: niveles de maíz y concentrado proteico. Prod. Anim. Trop. 1: 214-223.
- Sinha, K.N., Martz, F.A., Johnson, H.D. and LeRoy Hahn. 1970. Use of polyethylene glycol in estimation volumen and weight of rumen contents, and digestion in cattle. J. Anim. Sci. (30) 3: 467-471.
- Slyter, L.L., Satter, L.D. and Dinus, D.A. 1979. Effects of ruminal ammonia concentration on nitrogen utilization by steers. J. Anim. Sci. 48:906.
- Smith, L.W., Goering, H.R. and Gordon, C.H. 1972. Relationships of forage compositions with rates of cell wall digestion and indigestibility of cell wall. J. of Dairy Sci. 55: 1140-1147.
- Souza, O. Dos Santos, I.E. 2002. Digestibilidad in vivo, balance de nitrógeno e ingestión voluntaria en ovinos alimentados con paja de cebada tratada con urea. Archivos de Zootecnia [en línea] 2002, 51 [fecha de consulta: 15 de septiembre de 2010] Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=49519508>
- Stefanie J.W.H. Oude Elferink, Frank Driehuis, Jan C. Gottschal y Sierk F. Spoelstra. Los procesos de fermentación del ensilaje y su manipulación. Departamento de Agricultura. Consultado el 25 de marzo del 2009. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/005/X8486S/x8486s04.htm>
- Stewart, C.S. and Bryant, M.P. 1988. The rumen bacteria 21 -75 In Hobson, P. N.

1988. The rumen microbial ecosystem. Ed. Elsevier Applied Science. New York, USA: 527 pp

Sutherland, T.M. 1988. Particle separation in for estomachs of shepp. In Dobson, A. and Dobson, M.J. Aspects of Digestive Physiology in Ruminants. Proceedings of Satellite Symposium of the 30th International Congress of the International union of Physiological Science. Publishing Associates, Ithaca, New York, USA: 43-73.

Swingle, R.R., Araiza, A. and Urias, R. 1977. Nitrogen utilization by lambs fed wheat straw alone or with supplements containing dried poultry waste, cottonseed or urea. *J. of Anim. Sci.* 45 (6): 1435-1441.

Tamminga, S. 1978. Measurement in the microbial protein synthesis in the rumen.. 5.1-5.11. In Osbourn, D.F., Beever, E.D. and Thomson, D.J. Ruminant digestion and feed evaluation. Ed. Agricultural Research Council. London.

Tamminga, S. 1979. Relation between different carbohydrates and microbial synthesis of protein. Kiel Group Seminar. Uppsala.

Terramoccia S. 1989. Metodi in vitro mediante enzimi e liquid ruminale per la previsione della digeribilita della sostanza organic dei forraggi; confront con il método in vivo. *Animalli dell Istituto Sperimentale per la Zootechnia.* 22 (1989): 35-44.

Terranova. 1995. Enciclopédia Agropecuária. Tomos I. Santa Fé de Bogotá. Colombia. Terranova, editores. p. 109 – 112, 118 – 123, 159 - 162.

Terry R. 1978. Comparison of two in vitro procedures using rumen liquorpepsin or pepsin-cellulase for prediction of forage digestibility. *Journal of the British Grassland Society.* 33 (1978): 13-18.

Thaver, R.K. and Jurgermann, K. 1977. Energy conservation in chemotropic anaerobic bacteria. *Bact. Rev.* 41:100-180.

- Tilley J. M. and Terry R. A. 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of British Grassland Society*. 18: 104-111.
- Tilley J., Terry R. 1963. A two stage for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*. 18(1963): 104-111.
- Trabanco, S.A. 1985. La harina de pescado como fuente proteínica en los alimentos balanceados. Situación actual y perspectivas. UNAM. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Tesis Licenciatura. México D, F. 75 pp
- UCO. 2010. Digestibilidad del ensilado de paja y maíz utilizando ovejas manchegas en estado de mantenimiento. Universidad de Córdoba España. Consultado el 10 de junio del 2010. Disponible en: http://www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/03_12_57_Juan_Aurelio.pdf
- Van der Meer, J.M and Van Es, A.J.H. 1987. Optimal degradation of lignocellulosic feeds by ruminants and in vitro digestibility test. 21-31 In Van der Meer, J.M., Rijkens, B.A. and Ferrati, M.P. 1987. Degradation of lignocellulosic in ruminants and in industrial processes Ed. Elsevier Applied Science. New York, USA: 120 pp.
- Vet-Uy, 2004. Utilización de subproductos agrícolas. Consultado 21 de octubre del 2009. Disponible en: <http://www.vet-uy.com/articulos/agricultura/050/0013/agri013.htm>
- Waldo, D.R., Smith, L.W . and Cox, E.L. 1972. Model of cellulose disappearance from the rumen. *J. of Dairy Sci*. 55: 125-129.
- Wallace, R J. and Cotta, M.A. 1988. Metabolism of nitrogen-containing compounds. 217- 249 In Hobson, P.N. 1988. The rumen microbial ecosystem. Ed. Elsevier Applied Science. New York, USA: 527 pp
- Webster, A.J.F. 1978. Measurement and prediction of methane production,

fermentation heat and metabolism in the tissues of the ruminant gut. 8.1-8.10. In Osbourn, D. F., Beever, E.D. and Thomson, D.J. Ruminant digestion and feed evaluation. Ed. Agricultural Research Council. London, England.

Weimer, P. 1996. Why don't ruminal bacteria digest cellulose faster. *J. of Dairy Sci.* 79:1496-1502.

Wheeler, W.E. 1979. Influence of cement kiln dust on reticulorumen parameters of beef steers fed complete diets. *J. of Anim. Sci.* 49 (5):1364-1370.

Wheeler, W.E. 1981. Variability in response by beef steers to cement kiln dust in high concentrate diets. *J. of Anim. Sci.* 52 (3):618-627.

Wheeler, W.E. and Oltjen, R.R. 1979. Cement Kiln dust in complete diets for finishing steers and growing lambs. *J. of Anim. Sci.* 48 (3):658-665.

Wilkinson, J.M. y Prescott, H.D. 1970. The use chromic oxide in the measurement of individual feed intake in cattle fed on silage and barley. *Anim. Prod.* 12: 71-80.

Williams, G.A. and Coleman, G.S. 1988. The rumen protozoa 77- 128 In Hobson, P. N. 1988. The rumen microbial ecosystem. Ed. Elsevier Applied Science. New York, USA: 527 pp

Wilson, J.R. 1994. Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. *J. of Agri. Sci. Cambridge.* 122: 173-182 .

Wolin, M.J. and Miller, T.L. 1983. Interactions of microbial populations in cellulose fermentation. *Fed. Proc* 42: 109-113.

Zinn, R.A., Barajas, R., Montañó, M. and Sean, Y. 1996. Protein and energy value of dehydrated poultry excreta in diets for feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 74:2331-2335.

ANEXOS

TÉCNICA DE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO FLUIDO RUMINAL









