



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**Escuela Nacional de Estudios Profesionales
Iztacala**

**EVALUACION DEL TRATAMIENTO CON HIDROXIDO DE CALCIO Y
AMONIACO ANHIDO SOBRE EL RASTROJO DE MAIZ MEDIANTE
PRUEBAS DE DIGESTIBILIDAD EN OVINOS**

T E S I S

Para obtener el título de

LIC. EN BIOLOGIA

P r e s e n t a

MARIA EUGENIA JUAREZ SILVA

México, D. F.

1988



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mi madre:

Antonia Silva por su espíritu alentador
y su esfuerzo por hacer de
mi lo que ahora soy.

Gracias.

A mis Hermanos:

Victor Manuel.

Enrique

Virginia

y

Leticia

A G R D E C I M I E N T O S

A todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron a la elaboración de esta investigación.

Doy las gracias a mi asesora por haberme tenido mucha paciencia para lograr por fin la terminación de esta tesis, Araceli gracias .

Al Dr. Fernando Pérez-Gil R. por su apoyo y a todos mis compañeros del Instituto de la Nutrición del Departamento de Nutrición Animal.

Gracias.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
OBJETIVOS	7
ANTECEDENTES	8
MATERIAL Y METODOS	15
RESULTADOS	19
DISCUSION	35
CONCLUSIONES	40
ANEXOS	41
LITERATURA CITADA	53

INDICE DE CUADROS

	Página
I. Composición química del rastrojo de maíz.	6
II. Tratamientos a los que fue sometido el rastrojo de maíz.	16
III. Digestibilidad <u>in vitro</u> y desaparición <u>in situ</u> de la materia seca del rastrojo de maíz tratado con amoníaco anhídrido bajo diferentes condiciones de concentración, humedad y tiempo.	20
IV. Digestibilidad <u>in vitro</u> y desaparición <u>in situ</u> de la materia seca del rastrojo de maíz tratado con hidróxido de calcio bajo diferentes condiciones de concentración, humedad y tiempo.	22
V. Resultados de la prueba de Tukey de la digestibilidad <u>in vitro</u> y la desaparición <u>in situ</u> de la materia seca del rastrojo de maíz tratado con NH_3 .	25
VI. Resultados de la prueba de Tukey de la digestibilidad <u>in vitro</u> y la desaparición <u>in situ</u> de la materia seca del rastrojo de maíz tratado con $Ca(OH)_2$.	26
VII. Digestibilidad <u>in vitro</u> y desaparición <u>in situ</u> de la materia seca en los mejores tratamientos del rastrojo de maíz con NH_3 .	27

VIII. Digestibilidad <u>in vitro</u> y desaparición <u>in situ</u> de la materia seca en los mejores tratamientos del rastrojo de maíz con $\text{Ca}(\text{OH})_2$.	28
IX. Composición química de los diez tratamientos seleccionados del rastrojo de maíz con NH_3 .	30
X. Composición química de los diez tratamientos seleccionados del rastrojo de maíz con $\text{Ca}(\text{OH})_2$.	31
XI. Desaparición <u>in situ</u> de las fracciones de fibra y de nitrógeno total del rastrojo de maíz tratado con NH_3 bajo diferentes condiciones de concentración, humedad y tiempo.	32
XII. Desaparición <u>in situ</u> de las fracciones de fibra y nitrógeno total del rastrojo de maíz tratado con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ bajo diferentes condiciones de concentración, humedad y tiempo.	34

RESUMEN

Juárez Silva Maria Eugenia. Evaluación del tratamiento con hidróxido de calcio y amoniaco anhídoro sobre el rastrojo de maíz mediante pruebas de digestibilidad en ovinos. Bojo la dirección de M. en C. Araceli Aguilera B. y el M.V.Z. Fernando Pérez-Gil.

El objetivo principal de esta investigación fue encontrar las condiciones óptimas de tratamiento alcalino del rastrojo de maíz con relación a: Concentración de dos tipos de álcali, humedad del sustrato y tiempo de reacción, para obtener el máximo incremento en su digestibilidad. El rastrojo de maíz se trató por duplicado con 5 niveles de álcali (base a materia seca), 0,2,3,4 y 5 % para amoniaco anhídoro y 0,3,5,7, y 8 % para hidróxido de calcio, también se aplicaron 3 niveles de humedad, para el amoniaco anhídoro 9,13 y 18 y para el hidróxido de calcio de 18,23 y 32 %. Con el fin de conocer el tiempo óptimo de reacción del álcali sobre el rastrojo de maíz se probaron 5 tiempos los cuales fueron de 7,15, 30, 45 y 60 días para ambos álcalis. Terminado el tiempo de reacción, se procedió a evaluar la digestibilidad in vitro y la desaparición in situ de la materia seca de los tratamientos. A los resultados se les aplicó el análisis de varianza de un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de $5 \times 3 \times 5$. Las medias se compararon mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de ($P < 0.05$). Por medio de este análisis se seleccionaron los 10 tratamientos con los valores de digestibilidad más altos para cada álcali, a los cuales posteriormente se les determinó la desaparición in situ de las fracciones de fibra y nitrógeno.

En la composición del rastrojo de maíz tratado con NH_3 se observaron incrementos en el contenido de nitrógeno total y decrementos en el de celulosa ($P < 0.05$), mientras que en el rastrojo de maíz tratado con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ no se incrementaron grandes cambios en su composición.

Al evaluar la desaparición in situ de fracciones de fibra y nitrógeno, se detectaron incrementos significativos ($P < 0.05$) en el rastrojo de maíz tratado con ambos álcalis.

Concluyéndose que ambos tratamientos responden de manera similar, proponiéndose como los mejores al 2-18-45, 3-13-45 y 5-18-15 para el amoniaco anhidro y de 7-18-30 y 3-23-30 para el hidróxido de calcio.

"Evaluación del tratamiento con hidróxido de calcio y amoniaco anhídrido sobre el rastrojo de maíz, mediante pruebas de digestibilidad en ovinos".

Introducción:

El rastrojo de maíz es el esquilmo agrícola más abundante en México, con una producción anual de 24,263,272 toneladas (86), de las cuales el agricultor utiliza muy poco debido, primordialmente, a su pobre valor alimenticio (cuadro I), producto de la baja digestibilidad que posee y de resultar poco agradable. Su avanzado grado de lignificación, ha permitido que se utilice como ingrediente de lastre y en la mejor de las situaciones para el mantenimiento del ganado (2,3,20,84).

Los esquilmos agrícolas se producen en grandes cantidades, y son utilizados para diferentes finalidades, como por ejemplo, para la alimentación de rumiantes, como cama para aves, producción de papel y materiales aislantes, producción de compuestos químicos, como plásticos, aceites, alcohol o productos biológicos; como sustrato en la producción de proteína microbiana (6).

El rastrojo de maíz es un esquilmo que se adapta a diferentes climas y suelos, estando disponible en cualquier época del año; además, nuestra alimentación está basada en la producción de este grano y el residuo forrajero es poco utilizado en la alimentación de los animales (15,29).

En un futuro próximo se preve que el incremento de la población acentúe la desproporción que en la actualidad existe con respecto a la producción de los alimentos para el consumo humano. Esto impone la necesidad de establecer sistemas de alimentación basados en la utilización de esquilmos agrícolas y otros subproductos fibrosos de la agricultura los cuales no compiten con la alimenta-

ción humana y son convertidos eficientemente por los rumiantes en alimentos de alto valor biológico para el hombre (46,54,58,78,83).

Con el objeto de mejorar el valor nutritivo de los esquilmos agrícolas, se han desarrollado métodos físicos, biológicos y químicos que aumenten el consumo voluntario, la digestibilidad y su valor nutritivo (12,22,37,62,73).

Las técnicas más empleadas para mejorar el valor nutritivo de los esquilmos agrícolas son los métodos químicos y en especial aquellos a base de sustancias alcalinas tales como: el hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de calcio (Ca(OH)₂) y el amoníaco anhidro (NH₃). Se pueden utilizar otros productos químicos, pero son más caros y más difíciles de aplicar que el de los alcalis. El tratamiento de estos forrajes produce la ruptura de los enlaces éster que unen a la celulosa-hemicelulosa con la lignina, a partir de dicha reacción los glúcidos son liberados quedando susceptibles al ataque de las enzimas digestivas (28,83,98).

La reacción de amonólisis es la siguiente (83).



Donde:

R= Hidratos de carbono solubles (celulosa y hemicelulosa).

R*=Otro hidrato de carbono, un átomo de hidrógeno, un ácido carboxílico o una unidad de fenilpropano de la lignina.

La digestión de los alimentos en el rumen es diferente a la que ocurre en el tracto gastro intestinal dorsal, que también ha sido utilizado para evaluar los alimentos. Para el estudio de la desaparición de un alimento (in situ), éste se introduce en una bolsa permeable de material no digestible, tal como el nylon o el dacrón, la cual se suspende dentro del rumen de un animal fistulado. Esta técnica

llamada la técnica de la bolsa de nylon, es preferida por ser rápida, económica y muy sencilla (25,28,52,65,71,76).

Otra técnica que se utiliza pero bajo condiciones de laboratorio es la digestibilidad in vitro, en la cual se lleva a cabo una fermentación anaeróbica, colocando el sustrato en una solución buffer que simula la saliva del rumiante y el líquido del rumen filtrado, siendo todo el medio saturado de CO₂. El tiempo de fermentación es comúnmente de 48 horas (46,67,68,79).

Con el propósito de mejorar el valor alimenticio del rastrojo de maíz se realizó la presente investigación en las instalaciones del Departamento de Nutrición Animal del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán". Este estudio evaluó la viabilidad técnica y la digestibilidad a nivel laboratorio del tratamiento del rastrojo de maíz con diferentes concentraciones de hidróxido de calcio y amoníaco anhidro, aplicados con diferentes condiciones de humedad y tiempos de reacción.

CUADRO I
 COMPOSICION QUIMICA DEL
 RASTROJO DE MAIZ (1)

Nutrimento	%
Humedad	11.82 ± 0.08
Proteína cruda (Nx 5.70)	3.50 ± 0.29
Cenizas	8.38 ± 0.32
FDN	71.07 ± 0.38
FDA	48.50 ± 1.03
Hemicelulosa	22.57 ± 1.41
Celulosa	39.82 ± 1.70
Lignina	6.32 ± 0.52
Sílice	3.42 ± 0.11
Contenido celular	28.93 ± 0.38
Desaparición de la materia seca "in situ" a las 24 horas.	40.58 ± 0.92
Digestibilidad "in vitro" de la materia seca a las 48 horas.	36.52 ± 0.33

(1) Base Seca

FDN Fracciones Detergente Neutro

FDA Fracciones Detergente Acido

OBJETIVOS

GENERAL

a) Encontrar las condiciones óptimas de tratamiento alcalino del rastrojo de maíz en relación a: concentración de dos tipos de álcali, humedad del sustrato y tiempo de reacción para obtener el máximo incremento en su digestibilidad.

ESPECIFICOS

a) Conocer la composición química del rastrojo de maíz antes de los tratamientos químicos.

b) Determinar la digestibilidad in vitro y la desaparición in situ de la materia seca del rastrojo de maíz tratado con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y NH_3 anhidro.

c) Conocer la desaparición in situ de fracciones de fibra y nitrógeno de los 20 tratamientos seleccionados.

Antecedentes:

El conocimiento de los hábitos alimenticios de los animales es esencial para tener un mejor entendimiento de la relación que hay entre el animal y su medio ambiente, también nos permite saber cuales son los recursos que pueden ser aprovechados por los animales en los diferentes tipos de vegetación (39). En la actualidad, es uno de los mayores retos en la investigación agrícola y pecuaria, el desarrollo de métodos para estimar la calidad del forraje, sobre todo en los esquilmos agrícolas que son producidos en grandes cantidades y que muy poco son utilizados, ocasionando con ello problemas de contaminación ambiental, ya que no es aconsejable dejar residuos agrícolas en el suelo debido al desarrollo de pestes que pueden ser perjudiciales a nuevos cultivos, por eso, estos residuos deben de ser removidos del campo dándoles una mejor utilización (80,84,102).

Los rumiantes han tenido una gran importancia dentro de la economía proveyendo de carne, leche, pieles y lana, también en algunas partes del mundo son fuentes de transportación. Los rumiantes al igual que los demás animales, deben recibir los nutrientes esenciales en condiciones óptimas para mantenerse sanos, crecer y reproducirse con una máxima eficiencia (7,8). Debido a la presencia de microorganismos en el rumen, principalmente de bacterias y protozoarios que atacan el complejo lignocelulósico (celulosa, hemicelulosa y lignina), se ha pensado que los rumiantes son los animales más adecuados para consumir los esquilmos agrícolas. La celulosa es el polisacárido más abundante de la pared celular de estos esquilmos y el más insoluble, la celulosa es aprovechada por la microflora del rumen, en un grado variable entre un 25 a 90 % (81). La celulosa es un polímero lineal de D-glucosa que posee enlaces glucosídicos β 1 \longrightarrow 4 siendo su conformación helicoidal siendo estabilizada por puentes de hidró-

geno (90). En la mayoría de las células vegetales la estructura externa es la pared celular, que consiste en una red de fibras compuestas principalmente de celulosa. Esta disposición reticular es lo que le confiere su gran resistencia y permite que sirva como soporte mecánico que constituye el esqueleto de la planta (31,90).

La hemicelulosa existe en estrecha asociación con la lignina y la celulosa y es generalmente separada de la celulosa por extracción con álcalis o ácidos diluidos. La hemicelulosa varía en porcentaje de un tipo de material vegetal a otro con un rango de 30 a 40 % (24).

Los botánicos y los bioquímicos ven a la lignina como un polímero de fenilpropano carbohidratado, cuya función es dar soporte estructural y resistencia a la pared celular de las plantas (48). Desde el punto de vista nutricional, la presencia de lignina es desfavorable, ya que es una fracción indigerible por los rumiantes y puede también limitar la disponibilidad de los hidratos de carbono fácilmente fermentables (1,48,49). La lignina de las gramíneas se considera más soluble en álcalis (48) que la contenida en las leguminosas. La solubilidad de la lignina de gramíneas se puede relacionar con su alto contenido de grupos éster y por un bajo contenido de grupos metoxilo. La delignificación alcalina en gramíneas está asociada con un incremento en la digestibilidad de la pared celular insoluble, mientras que las leguminosas, las paredes celulares son relativamente indigeribles y cualquier incremento en la digestibilidad es debido a la solubilidad de los compuestos carbohidratados de la pared celular.

Cheng et al (23) observaron por medio de microfotografías electrónicas, que la pared celular de las plantas es rápidamente colonizada en el fluido ruminal, siendo el floema, la epidermis y el parénquima los más fuertemente colonizados y rápidamente digeridos; por el contrario, el esclerénquima y el tejido vascular lignifica-

dos son poco colonizados y poco digeridos.

El rumen difiere de otros hábitats microbianos naturales en su constancia relativa, y debe considerarse como un aparato de cultivo continuo y de gran eficacia para la propagación de los microorganismos anaerobios. Existe una entrada relativamente continua de alimento todos los días, con una mezcla constante y de tránsito de los residuos alimenticios no digeridos y de las células microbianas a las porciones inferiores del tubo digestivo. El contenido en humedad es relativamente constante y la presión osmótica se mantiene próxima a la de la sangre. la temperatura es usualmente de 38 a 42° C. El pH está entre 6 y 7, y está amortiguado por la entrada de grandes cantidades de saliva con bastante contenido de bicarbonato y fosfato, por la absorción al torrente circulatorio de los Acidos Grasos Volátiles (AGV's) y amoniaco producido en la fermentación y por la tendencia hacia el equilibrio iónico entre el contenido ruminal y la corriente sanguínea (17,18,27).

Como cualquier otro sistema viviente, los microorganismos ruminales requieren de nutrimentos básicos para realizar sus funciones biológicas. Dentro de estos requerimientos se menciona que los (AGV's) de cadena ramificada y lineal de 4 a 5 carbonos son esenciales, los carbohidratos que estan en el rumen son fermentados, implicando una degradación extracelular (catabolismo), hasta azúcares como la glucosa y sacarosa de cadena corta, mientras que el catabolismo intracelular supone la hidrólisis fosforilativa de los polisacáridos a monosacáridos y ulterior catabolismo del piruvato producido por glicólisis hasta AGV's, dióxido de carbono y metano (18,41).

Los microorganismos celulolíticos también requieren de varias vitaminas del complejo B y algunos minerales (9,19). De estos estudios se tiene que el molibdeno, azufre, magnesio, calcio, hierro y

fósforo incrementan la digestibilidad de la celulosa, mientras que el boro, cobre, cobalto y zinc la deprimen (9,80). Estos actúan en las reacciones enzimáticas como coenzimas o grupos prostéticos y sin su presencia sería imposible cualquier actividad enzimática de acuerdo al tipo de sustrato utilizado como fuente de energía. Por ejemplo entre estos diferentes géneros se encuentran Ruminococcus flávefaciens, Ruminococcus albus que hidrolizan los enlaces de la celulosa y de la celobiosa liberando moléculas de glucosa; también existen bacterias que digieren hemicelulosa, que utilizan azúcares y ácidos, bacterias lipolíticas, proteolíticas y bacterias que sintetizan vitaminas (7,24,38,41). La participación de los protozoarios ruminales en la degradación de la celulosa no es muy clara, pero varios géneros incluyendo Diplodinium y Epidinium, ingieren partículas de celulosa y parcialmente las digieren (7,74). En la degradación de hemicelulosa, los protozoarios del rumen participan activamente con la producción de hemicelulasas y xilanasas. Entre las especies más importantes se encuentran Epidinium ecaudatum, Eremoplaston bovis y mezcla de especies de Eubacterium (24,47).

Como ya se mencionó, los esquilmos agrícolas están constituidos por celulosa, hemicelulosa y lignina y son solo parcialmente digeribles por los rumiantes, por lo que se han venido desarrollando métodos sencillos y baratos que incrementa su valor nutritivo, tales como los tratamientos con álcalis que producen la ruptura de los enlaces lignocelulósicos aumentando así la digestibilidad (54).

Entre los tratamientos alcalinos que más se aplican a los esquilmos agrícolas se encuentran los de NaOH, Ca(OH)_2 y NH_3 , variando en cuanto a costo, eficiencia y adecuación del tratamiento, según los casos (43).

La solubilidad del Ca(OH)_2 es mucho menor que la del NaOH, por

lo que requiere de más tiempo para reaccionar en los esquilmos agrícolas. En el caso de forrajes húmedos o ensilajes, la acción del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ es casi igual a la del NaOH, (103). Una combinación de NaOH y $\text{Ca}(\text{OH})_2$ se han considerado como más efectiva que cada una de estas sustancias por separado. El $\text{Ca}(\text{OH})_2$ es uno de los productos más económicos de los que se puede disponer en el mercado y menos cáustico. Klopfenstein (1978), determinó la digestibilidad in vitro y la composición química de la cáscara de cacahuete, cajilla de algodón, olote de maíz, rastrojo de sorgo, alfalfa y algunos zacates, después de haber sido tratados con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ al 5 %, con un 50 % de humedad. En dicho experimento se observó una disminución de los componentes fibrosos. Sánchez (1976), encontró que el KOH eleva la digestibilidad de la paja de trigo hasta un 61 % seguido por el NaOH 60 % y el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en un 56 % (54,84,102,103).

Otro de los métodos en que actualmente se tiene mucho interés es el de la amoniatización, usando amoníaco anhidro como mejorador del forraje. Aún cuando este producto comparte algunas desventajas con el NaOH, como son su toxicidad y corrosividad, y lentitud en su acción, ofrece la gran ventaja de que contribuye con nitrógeno, el cual se retiene en el forraje tratado. En esta forma, se obtiene un producto nutritivamente más completo, ya que no solo se aumenta su digestibilidad, sino que también subsana parcialmente su deficiencia de nitrógeno. Waiss et al (1972), han indicado que un contenido del 30 % de H_2O , resulta óptimo cuando las pajas de arroz se tratan con un 5 % de amoníaco a temperatura ambiente (97). En los experimentos efectuados por Oji et al (1979), en rastrojo de maíz, la digestibilidad aparente del nitrógeno disminuyó, mientras que en los experimentos efectuados por Sundstøl et al (1972), en paja de cebada y avena, la digestibilidad aparente del nitrógeno aumentó con la amoniatización de 20 a 40 unidades porcentuales (12,45,56,59,73,93,96,97,102).

Para evaluar los efectos de los tratamientos alcalinos sobre los esquilmos agrícolas, se han utilizado técnicas de digestibilidad in vitro que intentan simular los procesos digestivos en el rumen. Estas técnicas se han mejorado desde 1955 (10). Los estudios in vitro o del rumen artificial, han sido utilizados intensamente por investigadores para evaluar la utilización de los alimentos, así como para estudiar el metabolismo del rumen. Aunque los procedimientos pueden variar de laboratorio a laboratorio, los pasos esenciales incluyen la fermentación de los organismos del rumen con la muestra del sustrato (forraje) en un buffer, por un período de tiempo determinado y la combinación de una segunda digestión enzimática con pepsina. Los resultados experimentales han demostrado que hay buena correlación de ($r=0.90$) entre la digestión in vitro de la celulosa o de la materia seca y la digestión in vivo de la materia seca, permitiendo así obtener en el laboratorio buenos resultados de la digestibilidad del forraje de prueba (10,13,77,98). Aunque, existen factores que pueden influir en los resultados de digestibilidad in vitro como son; concentración del sustrato, períodos muy prolongados de almacenamiento de las soluciones, pureza y capacidad del buffer, cantidad y preparación del inóculo del fluido ruminal y la dieta del animal donador (10,13,66,67).

A pesar del progreso que se ha logrado con las técnicas desarrolladas en los laboratorios en la evaluación de alimentos para ruminantes, la prueba de la desaparición de la materia seca (M.S.) in situ es la preferida (44,52). En 1938 fue cuando se utilizaron las primeras bolsas de seda natural para la medición de la digestión de los alimentos en el rumen, a partir de esa fecha muchos investigadores han usado esta técnica por ser muy sencilla (52, 65,99,100).

El interés en el uso de bolsas de fibra artificial para estudios de digestión en el rumen, ha sido estimulado por la necesidad de contar con una técnica rápida, fácil, confiable y económica que permita cuantificar la desaparición in situ (en el rumen). La desaparición in situ de los nutrimentos del forraje puede verse afectadas por varios factores como son: el tiempo de incubación (52, 57,71), el tamaño de la bolsa (65,94), el tamaño del poro de la bolsa (36,65), el tamaño de la muestra en relación al tamaño de la bolsa (65,94), la especie animal(44), la cantidad consumida (74), y la composición de la dieta (28,51,52,71,76). Es importante que los animales fistulados reciban dietas uniformes cuando sean utilizados para determinar la tasa de degradación de los materiales alimenticios. La variación entre animales puede resolverse al repetirse las mediciones por lo menos en tres animales (51).

La técnica de la bolsa de nylon provee una manera útil para evaluar la tasa de degradación de los alimentos y los suplementos. La técnica puede usarse en situaciones del campo para evaluar la digestibilidad del forraje consumido por los animales en pastoreo (51).

MATERIAL Y METODOS

Esta investigación se realizó en el Departamento de Nutrición Animal de la División de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición " Salvador Zubirán".

1.- Materias primas:

a) El rastrojo de maíz fue obtenido del Estado de México.

b) Se utilizaron 6 borregos criollos machos de un año de edad, procedentes de Topilejo, D.F. con un peso promedio de 25 kg.

2.- Se fistularon para colocar una cánula blanda de vinilo en el rumen mediante la técnica propuesta por Brown et al (16) y Hecker (35) anexo IV.

3.- Se realizó el análisis químico del rastrojo de maíz sin tratar que consistió en:

a) Análisis químico proximal, mediante la metodología propuesta por la A.O.A.C. (5) anexo I.

b) Determinación de fracciones de fibra (hemicelulosa, lignina y celulosa) y contenido celular, por los métodos propuestos por Goering y Van Soest (30) anexo II.

c) Determinación de nitrógeno por el analizador automático Kjeltec 1030 (60) anexo I.

d) Determinación de la desaparición in situ y digestibilidad in vitro de la materia seca, mediante el método propuesto por Mehrez y Ørskov (65) y por el método modificado por Minson y McLeod (67) respectivamente, anexo III.

4.- Realizada la caracterización química del rastrojo de maíz se procedió a tratar con 5 niveles diferentes de la sustancia química: hidróxido de calcio y amoníaco anhidro. También se probaron 3 niveles de humedad. Asimismo, con el fin de conocer el tiempo de reacción del álcali sobre el rastrojo de maíz, se probaron 5 diferentes tiempos.

Los 3 factores que se analizaron fueron: concentración,

humedad y tiempo con sus respectivos niveles para cada álcali. El diseño experimental empleado fue un arreglo factorial 5X3 X5, con un total de 75 tratamientos por álcali (ver cuadro II).

CUADRO II

TRATAMIENTOS A LOS QUE FUE SOMETIDO EL RASTROJO DE MAÍZ (1)

Concentración del álcali (%)		Humedad (%)		Tiempos de reacción (Días)	
NH ₃	Ca(OH) ₂	NH ₃	Ca(OH) ₂	NH ₃	Ca(OH) ₂
0	0	9	18	7	7
2	3	13	23	15	15
3	5	18	32	30	30
4	7			45	45
5	8			60	60

(1) En base seca.

Antes de tratar el rastrojo de maíz, éste se molió en un molino de martillos modelo Menotti No. 6.

4.1) Tratamiento con hidróxido de calcio:

Una vez calculada la cantidad de rastrojo, agua y álcali para cada tratamiento, se procedió a mezclar el agua con la sustancia química para que ésta se disolviera perfectamente bien, se extendió el rastrojo y se empezó a rociar la mezcla (agua + hidróxido de calcio) por medio de una regadera, mezclándose perfectamente, tratando de que el mezclado fuese lo más uniforme posible.

4.2) Tratamiento con amoníaco anhidro:

Una vez calculada la cantidad de rastrojo, amoníaco y agua necesaria para cada tratamiento, se realizó el mezclado del rastro-

jo y el agua, rociándose ésta por medio de una regadera, después de lo cual se procedió a llenar bolsas de plástico con 2.5 kg de rastrojo tratado. Las bolsas se cerraron parcialmente y se inyectó amoniaco anhidro. Durante el proceso de amoniación el tanque se situó sobre una balanza y por diferencia de peso se cuantificó la cantidad de amoniaco añadido para cada tratamiento.

Todos los tratamientos se hicieron por duplicado, a temperatura ambiente en bolsas de plástico con capacidad de 2.5 kg, sellándose perfectamente.

5) Terminados los tratamientos, se procedió a obtener la muestra para análisis, con la cual se trabajó para realizar las pruebas de desaparición in situ y digestibilidad in vitro de la materia seca a las 24 y 48 horas respectivamente. Este paso fue el primer tamiz por medio del cual se eliminaron aquellos tratamientos con menores digestibilidades.

6) Los resultados obtenidos de la desaparición in situ y la digestibilidad in vitro de la materia seca se analizaron mediante un análisis de varianza de un diseño completamente al azar con arreglo factorial $5 \times 3 \times 5$ y para comparar entre medias se empleó, la prueba de Tukey, con un nivel de significancia de $P < 0.05$ (92) empleando el paquete estadístico S.A.S. (91).

7) Por medio de este análisis se obtuvieron los 10 mejores tratamientos para cada álcali, a los que se les realizó una segunda evaluación, la cual consistió en:

a) Determinación de cenizas a los tratamientos con hidróxido de calcio.

b) Determinación del contenido y la desaparición in situ de las fracciones de fibra a ambos tratamientos a las 24 horas.

c) Determinación del contenido y la desaparición in situ de nitrógeno total a las 24 horas en los tratamientos con NH_3 .

8) A los resultados obtenidos se les aplicó el análisis de varianza de un diseño completamente al azar y para comparar entre medias se empleó la prueba de Tukey, con un nivel de significancia de (F<0.05) (92).

RESULTADOS

En el cuadro I se señalan las características y la digestibilidad del rastrojo de maíz que se empleó en el experimento, como se puede observar el esquilmo agrícola tiene un elevado porcentaje de paredes celulares (celulosa, hemicelulosa, lignina y sílice), un bajo contenido de proteína y una baja digestibilidad.

Después del tratamiento con amoniaco anhidro el rastrojo de maíz tuvo alteraciones físicas, cambiando su color de un amarillo oscuro a café y se hizo más quebradizo. En ninguno de los tratamientos se observó crecimiento de moho o la presencia de insectos.

Los resultados obtenidos para la digestibilidad de la materia seca in vitro y la desaparición in situ del rastrojo de maíz tratado con amoniaco anhidro e hidróxido de calcio bajo diferentes condiciones de concentración, humedad y tiempo de reacción se presentan en los cuadros III y IV.

Al ser sometidos los resultados de digestibilidad al análisis de varianza y a la prueba de Tukey, la computadora al ser programada para utilizar el paquete S.A.S. (91) arrojó los datos expresados en los cuadros V y VI, donde estos fueron agrupados por concentración, humedad y tiempo de reacción del álcali, ya que ella no pudo comparar los 75 tratamientos entre sí, debido a que se trataba de un gran número de combinaciones.

En base a los resultados de la prueba de Tukey para el tratamiento con amoniaco anhidro la mejor concentración fue de 5 % tanto para la digestibilidad in vitro, como para la desaparición in situ de materia seca; la mejor humedad para ambas fue de un 18 % y el tiempo de reacción del álcali donde se obtuvo la di-

CUADRO III

DIGESTIBILIDAD IN VITRO Y DESAPARICION IN SITU DE LA
MATERIA SECA DEL RASTROJO DE MAIZ TRATADO CON AMONIACO
ANHIDRO BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE CONCENTRACION,
HUMEDAD Y TIEMPO (1)

Concentración (%)	Humedad (%)	Tiempo (Días)	Digestibilidad "in vitro" (%)	Desaparición "in situ" (%)
SI	-	-	36.52+ 0.33	40.57+ 0.92
2	9	7	44.78+ 2.04	40.46+ 1.38
2	9	15	46.68+ 2.30	47.18+ 0.95
2	9	30	47.57+ 0.30	55.22+ 0.72
2	9	45	45.40+ 3.86	46.98+ 1.16
2	9	60	65.87+ 3.74	37.75+ 0.18
3	9	7	41.43+ 0.40	39.70+ 2.59
3	9	15	48.36+ 0.17	45.86+ 1.93
3	9	30	49.48+ 0.45	51.05+ 0.65
3	9	45	48.03+ 2.39	49.08+ 2.42
3	9	60	70.43+ 2.04	42.82+ 0.43
4	9	7	43.60+ 0.98	38.68+ 0.71
4	9	15	43.91+ 2.63	42.41+ 0.47
4	9	30	47.63+ 5.13	47.66+ 0.55
4	9	45	51.59+ 1.29	43.70+ 1.97
4	9	60	68.67+ 0.67	47.21+ 1.33
5	9	7	45.35+ 0.07	36.63+ 2.25
5	9	15	45.90+ 4.03	46.32+ 2.20
5	9	30	48.22+ 0.74	50.16+ 0.25
5	9	45	47.56+ 2.84	51.10+ 0.09
5	9	60	71.36+ 0.49	48.29+ 0.17
0	13	7	32.97+ 0.82	32.97+ 0.82
0	13	15	42.63+ 3.19	40.01+ 0.57
0	13	30	43.09+ 2.05	43.54+ 0.36
0	13	45	44.39+ 1.53	52.75+ 0.10
0	13	60	56.69+ 2.84	44.28+ 0.50
2	13	7	42.61+ 3.95	43.92+ 0.23
2	13	15	47.36+ 5.59	44.86+ 0.97
2	13	30	42.67+ 0.31	48.09+ 0.52
2	13	45	65.70+ 1.84	53.52+ 0.89
2	13	60	67.08+ 1.68	41.08+ 1.24
3	13	7	38.53+ 0.18	47.00+ 2.36
3	13	15	51.63+ 1.93	43.20+ 0.85
3	13	30	51.94+ 2.64	51.13+ 0.62
3	13	45	56.97+ 5.14	57.69+ 2.59
3	13	60	67.74+ 1.89	41.54+ 0.63

CUADRO III (Continuación)

Concentración (%)	Humedad (%)	Tiempo (Días)	Digestibilidad "in vitro" (%)	Desaparición "in situ" (%)
4	13	7	43.11+ 2.87	50.01+ 1.40
4	13	15	47.64+ 2.39	46.21+ 0.18
4	13	30	49.06+ 1.19	52.25+ 0.81
4	13	45	72.50+ 0.70	55.39+ 2.25
4	13	60	71.39+ 1.67	41.60+ 1.08
5	13	7	43.41+ 2.25	49.72+ 2.08
5	13	15	44.79+ 1.00	47.73+ 0.68
5	13	30	50.95+ 4.90	54.48+ 1.31
5	13	45	70.10+ 9.18	57.69+ 3.03
5	13	60	71.12+ 0.17	41.35+ 1.82
0	18	7	45.83+ 3.91	50.38+ 2.08
0	18	15	41.25+ 1.36	41.32+ 1.19
0	18	30	55.08+ 5.43	46.56+ 1.79
0	18	45	62.87+ 0.06	50.79+ 0.61
0	18	60	54.94+ 5.86	44.57+ 1.49
2	18	7	40.00+ 2.12	57.14+ 0.77
2	18	15	53.37+ 0.79	53.37+ 0.79
2	18	30	49.39+ 1.60	50.47+ 1.84
2	18	45	53.46+ 1.20	58.62+ 2.28
2	18	60	59.10+ 1.27	45.46+ 1.61
3	18	7	50.96+ 3.34	54.00+ 0.53
3	18	15	49.84+ 0.03	48.72+ 1.63
3	18	30	48.49+ 1.53	46.72+ 0.64
3	18	45	64.82+ 1.80	53.17+ 0.38
3	18	60	63.45+ 0.91	48.51+ 2.03
4	18	7	48.95+ 3.36	53.12+ 2.71
4	18	15	54.83+ 0.89	51.80+ 3.38
4	18	30	46.09+ 3.08	47.38+ 0.35
4	18	45	64.58+ 5.06	43.60+ 2.09
4	18	60	67.50+ 1.52	41.11+ 1.11
5	18	7	50.16+ 0.90	55.80+ 0.12
5	18	15	63.00+ 0.06	63.00+ 0.06
5	18	30	51.70+ 1.22	50.64+ 1.13
5	18	45	72.97+ 2.37	43.67+ 0.71
5	18	60	60.72+ 2.55	51.64+ 0.17

(1) Base seca

SI Rastrojo sin tratar.

CUADRO IV
 DIGESTIBILIDAD IN VITRO Y DESAFARICION IN SITU DE LA
 MATERIA SECA DEL RASTROJO DE MAIZ TRATADO CON HIDROXIDO
 DE CALCIO BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE CONCENTRACION,
 HUMEDAD Y TIEMPO (1)

Concentración (%)	Humedad (%)	Tiempo (Días)	Digestibilidad "in vitro" (%)	Desaparición "in situ" (%)
0	18	7	43.58+ 1.10	36.04+ 1.12
0	18	15	67.38+ 1.54	36.07+ 4.82
0	18	30	33.46+ 1.42	35.90+ 0.63
0	18	45	37.35+ 1.27	34.03+ 0.63
0	18	60	36.26+ 1.11	30.71+ 1.01
3	18	7	57.31+ 1.03	37.56+ 1.49
3	18	15	65.53+ 2.58	41.74+ 0.26
3	18	30	56.95+ 4.50	42.35+ 2.18
3	18	45	61.59+ 0.43	31.94+ 2.88
3	18	60	65.80+ 1.31	36.68+ 1.63
5	18	7	54.51+ 1.14	39.80+ 1.22
5	18	15	62.99+ 8.07	43.63+ 0.56
5	18	30	64.40+ 1.70	50.24+ 2.01
5	18	45	67.50+ 2.12	43.23+ 0.69
5	18	60	68.50+ 2.12	37.91+ 0.80
7	18	7	50.87+ 0.84	41.47+ 1.03
7	18	15	51.55+ 0.21	51.43+ 0.27
7	18	30	57.77+ 3.74	59.60+ 2.79
7	18	45	62.65+ 0.53	44.07+ 0.86
7	18	60	61.40+ 1.97	53.75+ 1.16
8	18	7	52.36+ 1.93	38.84+ 2.69
8	18	15	67.95+ 2.47	52.57+ 1.46
8	18	30	64.22+ 4.55	63.63+ 2.31
8	18	45	67.41+ 2.10	43.13+ 0.20
8	18	60	65.95+ 3.11	52.44+ 2.55
0	23	7	53.19+ 1.10	39.61+ 1.98
0	23	15	47.79+ 2.47	36.83+ 0.68
0	23	30	36.46+ 0.00	45.46+ 3.41
0	23	45	33.67+ 0.87	33.43+ 3.08
0	23	60	36.44+ 1.44	33.83+ 1.09
3	23	7	55.83+ 0.84	44.23+ 0.79
3	23	15	61.64+ 0.50	40.95+ 2.08
3	23	30	55.27+ 12.90	51.05+ 1.33
3	23	45	54.76+ 3.50	36.07+ 1.30
3	23	60	57.62+ 4.27	36.74+ 0.19

CUADRO IV (Continuación)

Concentración (%)	Humedad (%)	Tiempo (Días)	Digestibilidad " <u>in vitro</u> " (%)	Desaparición " <u>in situ</u> " (%)
5	23	7	59.24+ 1.23	42.47+ 1.92
5	23	15	61.16+ 0.00	38.24+ 0.80
5	23	30	56.66+ 6.13	36.07+ 1.30
5	23	45	67.29+ 0.55	41.11+ 0.32
5	23	60	56.66+ 1.22	36.37+ 0.41
7	23	7	53.89+ 1.11	44.65+ 0.46
7	23	15	57.55+ 4.87	47.60+ 3.17
7	23	30	59.17+ 4.60	53.62+ 2.46
7	23	45	69.65+ 0.62	45.43+ 2.63
7	23	60	63.67+ 0.48	33.15+ 1.40
8	23	7	53.55+ 0.87	40.11+ 0.69
8	23	15	65.38+ 3.36	46.11+ 1.51
8	23	30	67.19+ 1.36	52.30+ 0.45
8	23	45	62.07+ 6.32	45.19+ 2.95
8	23	60	64.89+ 6.42	38.48+ 0.56
0.	32	7	35.60+ 0.14	39.44+ 0.59
0	32	15	52.13+ 0.27	38.98+ 0.37
0	32	30	34.76+ 2.63	34.84+ 0.09
0	32	45	34.76+ 2.63	39.78+ 2.32
0	32	60	33.72+ 5.05	32.13+ 2.13
3	32	7	70.18+ 0.82	41.18+ 0.74
3	32	15	55.26+ 6.69	39.71+ 1.05
3	32	30	52.47+ 0.20	33.77+ 1.00
3	32	45	62.71+ 0.59	45.33+ 0.43
3	32	60	61.60+ 6.49	39.46+ 1.57
5	32	7	53.74+ 4.10	39.73+ 1.19
5	32	15	62.01+ 3.20	44.07+ 1.31
5	32	30	57.48+ 5.46	39.05+ 1.26
5	32	45	60.91+ 0.79	54.52+ 0.20
5	32	60	64.14+ 4.32	38.48+ 0.89
7	32	7	60.04+ 3.65	52.42+ 3.21
7	32	15	57.85+ 0.55	42.91+ 0.08
7	32	30	57.11+ 0.16	39.73+ 1.90
7	32	45	60.83+ 4.00	51.00+ 1.58
7	32	60	63.26+ 1.33	55.28+ 1.72
8	32	7	59.02+ 6.07	52.72+ 2.19
8	32	15	61.87+ 1.75	42.02+ 1.78
8	32	30	63.33+ 2.98	41.25+ 0.15
8	32	45	55.20+ 0.00	53.83+ 2.43
8	32	60	60.39+ 5.73	61.76+ 1.81

(1) En base seca

gestibilidad in vitro más alta fué a los 60 días, mientras que para la desaparición in situ fué a los 45 días (ver cuadro V).

Para el tratamiento con hidróxido de calcio las mejores concentraciones fueron 3,5,7, y 8 % de álcali obtenidas de la digestibilidad in vitro y de 7 y 8 % para la desaparición de la materia seca in situ, pero al no haber diferencia estadística ($P > 0.05$) entre las concentraciones en la digestibilidad in vitro, se eligió la concentración de 7 %, tanto para la digestibilidad in vitro como para la desaparición in situ de la materia seca, el mejor porcentaje de humedad obtenido para ambas digestibilidades fue de un 18 % y el tiempo de reacción donde el álcali tuvo una mayor eficacia para incrementar la digestibilidad in vitro fue a los 15, 45 y 60 días, no habiendo diferencia significativa ($P > 0.05$) entre ellas. Pero en la desaparición de la materia seca in situ el mayor incremento fue a los 30 días, el cual quedó para la digestibilidad in vitro en un segundo lugar, en cuanto al tiempo de 15 y 45 días no hubo diferencia significativa ($P > 0.05$) pero para el tiempo de 60 días fue el menor resultado obtenido por el tratamiento con el álcali (ver cuadro VI).

De acuerdo al resultado del análisis estadístico se procedió a elegir de los 75 tratamientos de cada álcali los diez que tuvieron las mejores digestibilidades, los cuales se muestran en los cuadros VII y VIII.

En los cuadros IX y X se presenta la composición del rastrojo de maíz tratado con amoníaco anhídrido e hidróxido de calcio respectivamente. Como se puede observar en el cuadro IX, el contenido de nitrógeno total aumentó con el tratamiento de amoníaco anhídrido mientras, que el contenido de celulosa disminuyó

CUADRO V
 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE PUKEY DE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO
 Y LA DESAPARICION IN SITU DE LA MATERIA SECA DEL RASTROJO DE
 MAIZ TRATADO CON NH₃

Variables	Digestibilidad " <u>in vitro</u> " (%)	Desaparición " <u>in situ</u> " (%)
Concentración (%)		
0	45.878 ^d	42.61 ^d
2	51.416 ^c	48.28 ^b
3	53.376 ^{bc}	48.02 ^b
4	54.730 ^{ab}	46.82 ^c
5	55.827 ^a	49.89 ^a
Humedad (%)		
9	49.150 ^c	44.15 ^c
13	52.645 ^b	47.15 ^b
18	54.937 ^a	50.07 ^a
Tiempo (Días)		
7	43.563 ^d	45.91 ^c
15	48.192 ^c	46.52 ^c
30	48.219 ^c	48.97 ^b
45	57.411 ^b	50.46 ^a
60	63.851 ^a	43.76 ^d

a,b,c,d; Para cada columna de cada variable, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P<0.05).

CUADRO VI
 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE PUKEY DE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO
 Y DE LA DESAFARICION IN SITU DE LA MATERIA SECA DEL RASTROJO
 DE MAIZ TRATADO CON $\text{Ca}(\text{OH})_2$

Variables	Digestibilidad " <u>in vitro</u> " (%)	Desaparición " <u>in situ</u> " (%)
Concentración (%)		
0	41.508 ^c	36.47 ^d
3	59.545 ^{ab}	39.92 ^c
5	61.082 ^{ab}	42.85 ^b
7	59.550 ^b	47.75 ^a
8	62.052 ^a	48.27 ^a
Humedad (%)		
18	58.252 ^a	43.14 ^a
23	56.430 ^b	42.28 ^b
32	55.619 ^b	43.73 ^a
Tiempo (Días)		
7	54.593 ^b	41.99 ^{bc}
15	59.807 ^a	42.85 ^b
30	54.450 ^b	46.44 ^a
45	57.632 ^a	42.81 ^b
60	57.355 ^a	41.15 ^c

a,b,c,d; Para cada columna de cada variable, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

CUADRO VII
 DIGESTIBILIDAD IN VITRO Y DESAPARICION IN SITU DE LA MAFERIA SECA EN LOS
 MEJORES TRATAMIENTOS DEL RASTROJO DE MAIZ CON AMONIACO ANHIDRO.

Concentración (l) (%)	Humedad (l) (%)	Tiempo (Días)	Digestibilidad "in vitro" (%)	Desaparición "in situ" (%)
SF			36.52± 0.33	40.58± 0.92
2	9	30	47.57± 0.30	55.22± 0.72
2	13	45	65.70± 1.84	53.52± 0.89
2	18	45	53.46± 1.20	58.62± 2.28
3	9	45	48.04± 2.39	49.08± 2.42
3	13	45	56.97± 5.14	57.69± 2.59
3	18	15	49.84± 0.03	48.72± 1.63
4	13	45	72.50± 0.70	55.39± 2.25
5	9	45	47.57± 2.84	51.11± 0.09
5	13	30	50.95± 4.90	54.48± 1.31
5	18	15	63.01± 0.06	63.01± 0.06

SF: Rastrojo sin tratar

(l) Base seca

CUADRO VIII

DIGESTIBILIDAD IN VITRO Y DESAFARICION IN SITU DE LA MATERIA SECA EN LOS MEJORES TRATAMIENTOS DEL RASTROJO DE MAIZ CON HIDROXIDO DE CALCIO.

Concentración (l) (%)	Humedad (l) (%)	Tiempo (Días)	Digestibilidad "in vitro" (%)	Desaparición "in situ" (%)
ST			36.52± 0.33	40.56± 0.92
3	18	30	56.95± 4.50	42.30± 2.18
3	23	30	55.26± 12.90	51.06± 1.33
5	18	15	62.99± 8.10	43.63± 0.56
5	18	30	64.41± 1.70	50.25± 2.01
5	23	30	56.67± 6.13	53.76± 2.79
7	18	15	51.55± 0.21	51.43± 0.27
7	18	30	57.78± 3.74	59.61± 2.79
7	18	60	61.40± 1.97	53.75± 1.16
7	23	15	57.55± 4.87	47.61± 3.17
7	23	30	59.16± 4.60	53.63± 2.46

ST: Rastrojo sin tratar

(l) Base seca

en todos los tratamientos, en tanto que en el de la lignina y FDN no hubo diferencia significativa ($P \geq 0.05$) con la amoniación. En cuanto a FDA se observó que hubo una disminución en el contenido de fibra de los diez tratamientos pero que no fue estadísticamente significativa a excepción de los tratamientos 3-13-45, 3-18-15 y 4-13-45. En lo que respecta, al contenido de hemicelulosa aumentó significativamente ($P < 0.05$) con el tratamiento de amoniaco anhidro en los tratamientos 2-18-45 y 3-13-45, no existiendo diferencia significativa ($P \geq 0.05$) entre los demás tratamientos.

En el cuadro X se aprecia que con el tratamiento de hidróxido de calcio, el contenido de cenizas aumentó significativamente ($P < 0.05$), en tanto que el de la lignina, celulosa y FDN no presentó diferencias significativas ($P \geq 0.05$) con el tratamiento para FDA en los tratamientos 5-18-15, 5-18-30, 7-18-60, 7-23-30, 3-23-30 y 7-18-30 no hubo diferencia significativa ($P \geq 0.05$), mientras que el tratamiento 7-23-15, presentó una disminución con el tratamiento de hidróxido de calcio. En cuanto a la hemicelulosa se aprecia en forma global que no hubo diferencia significativa ($P \geq 0.05$) entre ellas.

Una vez caracterizado químicamente el rastrojo de maíz sometido a los tratamientos, se procedió a calcular el porcentaje de la desaparición in situ de las fracciones de fibra cuyos resultados se señalan en los cuadros XI y XII.

En el cuadro XI se observa que con la amoniación se produjo un incremento global significativo ($P < 0.05$) en la desaparición in situ de FDN, FDA, hemicelulosa, celulosa y nitrógeno. Sin embargo, la desaparición de la hemicelulosa no presentó di-

CUADRO IX

COMPOSICION QUIMICA DE LOS DIEZ TRATAMIENTOS SELECCIONADOS DEL
RASTROJO DE MAIZ CON AMONIACO ANHIDRO (1)

C:H:I	FDN (%)	FDA (%)	Hemicelulosa (%)	Celulosa (%)	Lignina (%)	Nitrógeno Total
ST	71.07±0.38	48.50±1.03 ^b	22.57±1.41 ^b	39.82±1.70 ^b	6.32±0.52	0.57±0.02 ^e
2 9 30	66.56±0.38	41.23±2.31 ^{ab}	25.33±1.65 ^{ab}	32.55±1.89 ^a	5.23±0.18	1.31±0.04 ^{bc}
2 13 45	69.87±1.94	42.89±1.49 ^{ab}	26.98±0.43 ^{ab}	34.06±0.35 ^a	6.39±0.64	1.06±0.16 ^c
2 18 45	71.18±2.91	41.35±3.20 ^{ab}	29.83±0.29 ^a	30.11±1.52 ^a	5.72±1.32	1.32±0.00 ^{bc}
3 9 45	69.04±0.66	41.93±2.38 ^{ab}	27.11±1.72 ^{ab}	33.08±1.24 ^a	6.31±0.71	1.33±0.16 ^{bc}
3 13 45	70.43±0.83	40.53±1.67 ^a	29.90±0.83 ^a	32.97±0.69 ^a	5.53±0.68	1.20±0.07 ^{bc}
3 18 15	65.31±0.50	40.24±1.84 ^a	25.07±2.33 ^{ab}	32.04±0.63 ^a	5.70±1.17	1.25±0.03 ^{bc}
4 13 45	69.00±1.40	40.48±1.55 ^a	28.53±0.15 ^{ab}	31.87±2.44 ^a	5.86±0.47	1.41±0.02 ^{bcd}
5 9 45	68.60±2.11	41.31±0.24 ^{ab}	27.29±2.35 ^{ab}	33.27±1.06 ^a	5.86±1.13	1.49±0.01 ^{ab}
5 13 30	67.03±2.51	41.17±2.06 ^{ab}	25.86±0.43 ^{ab}	33.05±1.54 ^a	4.32±1.19	1.87±0.22 ^a
5 18 15	65.83±1.61	41.06±1.93 ^{ab}	24.78±3.53 ^{ab}	32.05±0.19 ^a	4.06±0.45	1.79±0.03 ^{ad}

(1) Base seca.

C: Concentración (%)

H: Humedad (%)

I: Tiempo (Días)

a,b,c,d,e: Para cada columna, los valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P<0.05)

ST: Rastrojo sin tratar

FDN: Fracciones Detergente Neutro

FDA: Fracciones Detergente Acido

CUADRO X

COMPOSICION QUIMICA DE LOS DIEZ TRATAMIENTOS SELECCIONADOS DEL RASTROJO DE MAIZ CON HIDROXIDO DE CALCIO (1)

C:H:T	FDN (%)	FDA (%)	Hemicelulosa (%)	Celulosa (%)	Lignina (%)	Cenizas (%)
ST	71.07+0.38	48.50+1.03 ^{bc}	22.57+1.41 ^{ab}	39.82+1.70	6.32+0.52	8.38+0.32 ^d
3 18 30	66.07+3.17	42.06+1.01 ^{ac}	24.01+4.19 ^{ab}	31.55+1.17	7.01+0.03	13.25+0.21 ^{bc}
3 23 30	69.39+0.50	49.85+0.68 ^b	19.54+0.17 ^{ab}	40.23+4.12	7.05+0.08	12.34+0.47 ^b
5 18 15	66.14+0.97	47.96+1.08 ^{bc}	20.52+1.13 ^{ab}	35.27+2.79	7.16+0.85	13.38+0.70 ^{bc}
5 18 30	65.81+1.84	48.70+3.38 ^{bc}	17.11+1.54 ^b	34.59+2.91	7.70+0.39	14.13+0.94 ^{bc}
5 23 30	69.98+0.66	43.14+2.49 ^{ab}	26.84+3.15 ^a	31.61+2.43	6.41+0.35	13.04+0.49 ^{bc}
7 18 15	68.47+0.04	45.63+1.83 ^{ab}	20.57+0.87 ^{ab}	34.57+1.54	5.99+0.78	14.42+0.55 ^c
7 18 30	67.26+2.24	47.47+0.98 ^{ab}	19.79+1.27 ^{ab}	35.93+1.39	7.56+0.08	14.23+0.08 ^{bc}
7 18 60	71.73+0.71	48.33+2.35 ^{bc}	23.40+3.05 ^{ab}	36.63+2.79	7.02+0.91	14.49+0.53 ^c
7 23 15	65.98+2.27	40.27+2.31 ^a	25.91+0.04 ^a	32.07+1.68	7.19+0.90	18.47+0.38 ^a
7 23 30	68.73+0.78	47.76+0.09 ^{bc}	20.38+0.87 ^{ab}	35.93+0.57	6.41+0.18	17.43+0.39 ^a

(1) Base seca

C: Concentración (%)

H: Humedad (%)

T: Tiempo (Días)

a,b,c,d: Para cada columna, los valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P<0.05)

SI: Rastrojo sin tratar

FDN: Fracciones Detergente Neutro

FDA: Fracciones Detergente Acido

CUADRO XI
 DESAPARICION IN SITU DE LAS FRACCIONES DE FIBRA Y DE NITROGENO TOTAL
 DEL RASTROJO DE MAIZ TRATADO CON AMONIACO ANHIDRO BAJO DIFERENTES
 CONDICIONES DE CONCENTRACION, HUMEDAD Y TIEMPO (1)

C:H:F	FDN (%)	FDA (%)	Hemicelulosa (%)	Celulosa (%)	Nitrógeno (%)
ST	32.31±0.75 ^d	27.47±1.13 ^e	42.74±0.89 ^a	31.30±1.51 ^c	20.49±1.24 ^g
2 9 30	43.87±0.12 ^b	44.62±0.16 ^{bc}	42.65±0.18 ^a	49.37±0.14 ^{abg}	66.39±0.11 ^{cdf}
2 13 45	44.32±0.66 ^b	41.47±1.93 ^{ac}	49.27±0.84 ^c	44.89±0.92 ^{aef}	61.91±0.64 ^c
2 18 45	55.56±1.88 ^a	44.04±3.35 ^{bcd}	71.51±1.70 ^d	55.62±2.66 ^g	67.98±1.92 ^{df}
3 9 45	41.57±2.12 ^b	38.97±3.13 ^{ac}	45.57±2.80 ^{ac}	36.15±3.27 ^{cd}	69.62±1.56 ^{ad}
3 13 45	52.04±2.41 ^{ac}	44.14±3.98 ^{bcd}	62.75±2.65 ^b	49.86±3.56 ^{bfg}	68.69±2.23 ^{df}
3 18 15	44.05±0.63 ^b	35.50±2.23 ^{ade}	42.73±1.97 ^a	41.69±2.02 ^{ad}	62.89±1.28 ^c
4 13 45	45.84±0.81 ^{bc}	42.70±1.22 ^{cd}	50.31±1.06 ^c	46.87±1.13 ^{abe}	70.27±0.63 ^{nef}
5 9 45	43.57±0.12 ^b	39.18±0.18 ^{ac}	50.21±0.14 ^c	41.37±0.16 ^{de}	74.37±0.06 ^{be}
5 13 30	43.45±1.28 ^b	33.63±2.13 ^{ae}	59.10±1.31 ^b	29.90±2.24 ^c	75.72±0.78 ^b
5 18 15	55.09±0.12 ^a	52.63±0.18 ^b	59.17±0.16 ^b	53.16±0.18 ^{bg}	74.13±0.09 ^{ab}

(1) Base seca

C: Concentración (%)

H: Humedad (%)

T: Tiempo (Días)

a,b,c,d,e,f,g: Para cada columna, los valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P<0.05).

ST: Rastrojo sin tratar

FDN: Fracciones Detergente Neutro

FDA: Fracciones Detergente Acido

ferencia significativa ($P < 0.05$) con la amoniatización en los tratamientos 2-9-30, 3-9-45 y 3-18-15.

Los tratamientos 2-18-45, 3-13-45 y 5-18-15 presentaron las mas altas desapariciones de FDN, FDA, hemicelulosa y celulosa.

En el cuadro XII se presenta el tratamiento del rastrojo de maíz con hidróxido de calcio donde se aprecia un incremento global de la desaparición de FDN, FDA, hemicelulosa, celulosa y nitrógeno. Sin embargo, en la desaparición in situ de FDN el tratamiento 3-18-30 y de FDA los tratamientos 3-18-30, 5-18-15, 7-23-15 y 7-23-30 no presentaron beneficios con el tratamiento de hidróxido de calcio. En cuanto a la desaparición de la hemicelulosa ésta se incremento en los tratamientos 7-23-15, 5-18-15, 5-23-30, 7-23-30, 7-18-60 y 7-18-30, en tanto que en los tratamientos 3-18-30, 3-23-30, 5-18-30 y 7-18-15 no hubo diferencia significativa ($P < 0.05$). Los porcentos de celulosa para los tratamientos de 3-18-30, 5-18-15, 5-18-30, 7-18-15 y 7-23-30 no presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) con el rastrojo sin tratar, mientras que para los demás tratamientos la desaparición aumentó significativamente. La desaparición in situ de nitrógeno del rastrojo de maíz tuvo un incremento al ser tratado con hidróxido de calcio (ver cuadro XII).

Resumiendo las desapariciones de fracciones de fibra y nitrógeno, se tuvo que los mejores tratamientos correspondieron a 7-18-30 y 3-23-30.

CUADRO XII

DESAPARICION IN SITU DE LAS FRACCIONES DE FIBRA Y DE NITROGENO TOTAL DEL RASTROJO DE MAIZ TRATADO CON HIDROXIDO DE CALCIO BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE CONCENTRACION, HUMEDAD Y TIEMPO (1)

G:H:T	FDN (%)	FDA (%)	Hemicelulosa (%)	Celulosa (%)	Nitrógeno (%)
ST	32.32±0.75 ^c	27.47±1.13 ^a	42.74±0.89 ^b	31.30±1.51 ^a	20.49±1.24 ^b
3 18 30	31.65±1.97 ^c	26.65±2.99 ^a	40.41±2.43 ^b	32.69±2.74 ^a	40.33±2.43 ^a
3 23 30	44.88±1.21 ^{ab}	44.73±1.72 ^{bd}	45.25±1.70 ^b	48.37±1.60 ^c	45.61±1.69 ^a
5 18 15	39.69±1.34 ^{ac}	31.16±1.53 ^{ac}	59.60±0.90 ^a	35.85±1.42 ^{ab}	35.97±1.43 ^{ac}
5 18 30	42.36±1.96 ^{ae}	42.23±2.77 ^{bcd}	42.64±2.74 ^b	30.02±3.36 ^a	22.59±3.72 ^b
5 23 30	50.63±2.35 ^{bde}	42.35±3.87 ^{bd}	63.94±2.42 ^a	45.47±3.65 ^{bcd}	44.49±3.72 ^a
7 18 15	43.64±0.89 ^{ab}	44.22±1.23 ^{bd}	42.34±1.27 ^b	33.65±1.47 ^a	42.37±1.27
7 18 30	54.62±2.40 ^d	50.71±3.69 ^d	64.00±2.69 ^a	46.36±4.01 ^{bc}	46.29±4.02 ^a
7 18 60	51.12±0.85 ^{bde}	46.88±1.30 ^{bd}	59.85±0.98 ^a	48.97±1.24 ^c	40.68±1.45 ^a
7 23 15	52.30±2.82 ^{bd}	36.54±5.28 ^{ab}	76.98±1.91 ^c	36.59±5.28 ^{bd}	35.33±5.38 ^{ac}
7 23 30	44.78±1.33 ^{ab}	36.63±2.15 ^{ab}	63.30±1.25 ^a	38.20±2.10 ^{ac}	26.48±2.51 ^{bc}

(1) Base seca

G: Concentración (%)

H: Humedad (%)

T: Tiempo (Días)

a,b,c,d,e: Para cada columna, los valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P<0.05)

ST: Rastrojo sin tratar

FDN: Fracciones Detergente Neutro

FDA: Fracciones Detergente Acido

DISCUSION

Las alteraciones en el color y en la consistencia del rastrojo tratado con amoniaco anhídrido, concuerdan con lo observado por Saenger et al (83), Sundstøl et al (93) y Schuerch y Davidson (85). Por otro lado, el nivel de humedad aplicado no provocó crecimiento de mohos e insectos en los tratamientos con amoniaco anhídrido e hidróxido de calcio, así lo observaron Sundstøl et al (93). Schuerch y Davidson (85), encontraron que el amoniaco es un fungicida efectivo que tiene la capacidad de destruir la germinación de algunas semillas de malas hierbas conservando así el material tratado. Una recomendación que hacen Bass et al (11) es aplicar una mínima cantidad de agua para obtener un máximo efecto en la adición de álcalis.

La digestibilidad in vitro de la materia seca del rastrojo de maíz tratado con amoniaco anhídrido mostró aumentos desde 30 hasta 99 % y para la desaparición in situ de la materia seca desde 20 hasta 55 % (ver cuadro VII); estos resultados concuerdan con los obtenidos por Gutiérrez (34), Gordon y Chesson (32), Sundstøl et al (93), Jackson (42), Sánchez (84), Saenger et al (83), Waiss et al (97) y Borhami y Sundstøl (14). El amoniaco anhídrido representa por su disponibilidad y costo una buena opción para el tratamiento alcalino del rastrojo de maíz.

La digestibilidad in vitro de la materia seca del rastrojo de maíz tratado con hidróxido de calcio presentó aumentos desde 4 hasta 76 % y para la desaparición in situ desde 4 hasta 47 % (ver cuadro VIII). Este incremento de debió a que el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ actuó sobre el complejo lignocelulósico del rastrojo de maíz. Resultados obtenidos con el tratamiento de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ por Dixon y Escobar (26), Jackson (43), Martín et al (61) y Rounds et al (82), señalan que el empleo de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ presenta ventajas como mayor seguridad de operación, menor costo y mayor disponibilidad local,

pero tiene la desventaja de que puede requerir períodos más largos de tratamiento debido a que presenta una tasa de reacción lenta en comparación con otros compuestos alcalinos. Soofi et al (89), Lesoing et al (55), Oji et al (72) y Klopfenstein et al (53), combinaron el Ca(OH)_2 con NaOH para incrementar la digestibilidad de pajas, encontrando resultados satisfactorios, por otra parte, con la adición de este álcali se contribuye a la suplementación de calcio, además de que se han informado niveles de digestibilidad de las pajas con Ca(OH)_2 hasta de un 56 %, Meléndez y Márquez (66). En contraste, Bass et al (11) informan que a una concentración de 5 % de Ca(OH)_2 bajo condiciones aeróbicas se producen materiales poco adecuados.

En el cuadro IX se puede observar que en el rastrojo de maíz tratado con amoniaco anhidro el contenido de FDN y lignina no presentó diferencia con respecto al rastrojo sin tratar; sin embargo, en investigaciones realizadas por Aguilera (4), Jurado (50) y Gutiérrez (34), las pajas presentaron decrementos en FDN. Con respecto a la FDA, ésta disminuyó desde un 12 hasta un 17 % habiendo solamente diferencia en los tratamientos 3-13-45, 3-18-15 y 4-13-45, igualmente estos hechos fueron observados por Gutiérrez (34) y Jurado (50). En cuanto al contenido de hemicelulosa, este presentó aumentos del 32 % en los tratamientos 2-18-45 y 3-13-45 con respecto al rastrojo sin tratar. La concentración de celulosa disminuyó desde un 15 hasta un 24 % en forma general, obteniendo la máxima disminución el tratamiento 2-18-45 con relación al rastrojo sin tratar, hecho observado por Jackson (42) y Van Soest et al (95). Esta respuesta se debió a que el amoniaco saponifica los enlaces éster de la unión entre la lignina y la hemicelulosa de las paredes celulares provocando hinchazón y aumento en la flexibilidad de la fibra, así como el incremento del área de superficie de la celulosa y hemicelulosa (42,53,80,83,87). Este

fenómeno es provocado por la solubilidad de la hemicelulosa y la hidrólisis de ésteres del ácido urónico y acético, (33,42, 55,63,72).

El rastrojo de maíz amoniaco (cuadro IX) presentó un incremento en el contenido de nitrógeno total desde 86 hasta 225 % con respecto al rastrojo sin tratar, estos resultados concuerdan con los presentados por Aguilera (4), Al-Rabbat (3), Gutiérrez (34), Herrera-Saldaña et al (37), Horton y Steacy (40), Jackson (43), Jayassexiya (45), Jurado (50), Llamas (58), Males y Gaskins (59), Martínez y Shimada (63), Orskov (75), Figden y Heaney (81), Saenger et al (83), Sundstøl et al (93), Waiss et al (97) y Zorrilla (104). Este incremento se debió a la adición del amoníaco y a una probable liberación del nitrógeno enlazado a la lignina, que al momento de llevarse a cabo la hidrólisis del complejo lignocelulósico se libera (38,101).

Como se señala en el cuadro X, el rastrojo de maíz tratado con Ca(OH)_2 no mostró diferencia en el contenido de FDN, celulosa y lignina con relación al rastrojo sin tratar; mientras que trabajos presentados por Gutiérrez (34) y Jurado (50) mencionan que hay un decremento de FDN y celulosa en pajas tratadas con Ca(OH)_2 . Por otro lado, la FDA en el tratamiento 7-23-15 presentó una disminución con el tratamiento, mientras que los demás no presentaron diferencias, de esta manera se puede apreciar que hubo una disminución del 17 % con respecto al rastrojo sin tratar, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Gutiérrez (34) y Jurado (50). La hemicelulosa no presentó diferencias. En cuanto al incremento en el contenido de cenizas con el tratamiento alcalino se debió a la adición de calcio, Gutiérrez (34) y Jurado (50). En relación al porcentaje de cenizas, éste aumentó de 47 a 120 % en comparación con el rastrojo sin tratar.

Como se señala en el cuadro XI, la desaparición de FDN in situ

en el rastrojo de maíz tratado con amoniaco anhídrido aumentó de un 29 hasta un 72 %, obteniéndose los mayores porcentos en los tratamientos 2-18-45, 5-18-15 y 3-13-45, resultados que concuerdan con Aguilera (4), Al-Rabbat y Heaney (3), Gutiérrez (34), Horton y Steacy (40), Jurado (50) y Oji y Mowat (72). La desaparición de FDA se incremento de 22 hasta 92 %, esto se apreció en forma general, mientras que en los tratamientos 2-18-45, 5-18-15 y 3-13-45 se observó un incremento aproximadamente de 60 %, habiendo diferencia con respecto al rastrojo sin tratar. Al-Rabbat y Heaney (3), Gordon y Chesson (32), Herrera-Saldaña et al (37), Jurado (50) y Morrison y Brice (69), encontraron incremento en la desaparición de FDA de 12 a 43.8 %. La desaparición in situ de la hemicelulosa aumentó hasta un 67 %, obteniendo el mayor porciento el tratamiento 2-18-45, habiendo diferencia con relación al rastrojo sin tratar; estos resultados concuerdan con los presentados por Lesoing et al (55), Gordon y Chesson (32), Jurado (50), Oji y Winch (72) y Smith et al (67), con incrementos de 51.3 a 67.3 %. La desaparición in situ de la celulosa aumentó hasta un 78 %, obteniendo los máximos porcentos los tratamientos 2-9-30, 2-18-45, 3-13-45 y 5-18-15, habiendo una diferencia con respecto al rastrojo de maíz sin tratar, lo cual ha sido observado por Al-Rabbat y Heaney (3), Jackson (42), Jurado (50) y Oji y Mowat (73) que representan incrementos de un 40 a 74 %.

En la desaparición in situ de nitrógeno total (cuadro XI), hubo un aumento de 203 a 270 %, encontrando en todos los tratamientos diferencia con relación al rastrojo sin tratar. En base a ésto se puede decir que el amoniatizar un forraje de mala calidad se tiende a incrementar la proporción de nitrógeno de un 28 a 379 % según resultados obtenidos por Aguilera(4), Al-Rabbat y Heaney (3), Gutiérrez (34), Jurado (50), Males y Gaskins (59), Saenger et al (83), Sundstøl et al (93) y Waiss et al (97), sin

embargo, Herrera-Saldaña et al (37) y Smith et al (87) informan decrementos que van desde 13.5 a 18 %, y Oji y Mowat (72), que es constante. Por consiguiente, el aumento en la desaparición de nitrógeno in situ del rastrojo de maíz amoniato (3,59,70), probablemente indica que los microorganismos ruminales lo emplearon con eficacia para cubrir sus requerimientos nutricionales.

En el cuadro XII se presenta la desaparición in situ, de fracciones de fibra del rastrojo de maíz tratado con hidróxido de calcio, en donde hubo un aumento de la desaparición de PDN y FDA hasta un 69 y 85 % respectivamente, obteniendo los máximos porcentos el tratamiento 7-18-30, observándose diferencias con respecto al rastrojo sin tratar. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Jurado (50). La desaparición in situ de la hemicelulosa aumentó hasta un 80 % obtenido este porcentaje el tratamiento 7-23-15, mientras que para el tratamiento 7-18-30 sólo aumentó un 50 % en relación al rastrojo de maíz sin tratar (50). En cuanto a la celulosa, ésta presentó un aumento hasta del 56 % obteniendo este porcentaje los tratamientos 7-18-60 y 3-23-30, mientras que el tratamiento 7-18-30 incremento un 48 % con respecto al rastrojo sin tratar esto concuerda con lo informado por Jackson (42), Jurado (50), Oji y Mowat (73), Klopfenstein et al (54) y Capper et al (21).

La desaparición in situ del nitrógeno total (ver cuadro XII), en todos los tratamientos aumentó considerablemente de 10 hasta 126 %, obteniendo el mayor porcentaje los tratamientos 7-18-30 y 3-23-30 habiendo diferencia en relación al rastrojo sin tratar, Sundstól et al (93) reporta resultados similares. Este aumento se debió probablemente al efecto del álcali sobre el complejo lignocelulósico liberando nitrógeno (62,73,93). Por lo tanto, la fijación de nitrógeno está determinado por el tipo de paja o rastrojo, concentración del álcali, humedad del material tratado, el tiempo de reacción y la temperatura ambiental (93).

CONCLUSIONES

El tratamiento con amoniaco anhídrico incrementó en mayor proporción la digestibilidad in vitro que la desaparición in situ comparado con las obtenidas en los tratamientos con $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

La amonietización del rastrojo de maíz aumenta el contenido de nitrógeno total y disminuye el de celulosa.

El tratamiento con hidróxido de calcio no provocó grandes cambios en el contenido de fracciones de fibra del rastrojo de maíz.

El tratamiento con hidróxido de calcio y amoniaco anhídrico sobre el rastrojo de maíz favorece la desaparición in situ de FDN, FDA, hemicelulosa y celulosa en proporciones similares. Por lo que ambos tratamientos son viables para el mejoramiento del rastrojo de maíz.

De acuerdo a la información generada, los tratamientos más aconsejables en el rastrojo de maíz son: 2-18-45, 5-18-15 y 3-13-45, para el amoniaco anhídrico y de 7-18-30 y 3-23-30 para el hidróxido de calcio.

A N E X O I

ANALISIS QUIMICO PROXIMAL.

1.- Determinación de Humedad (5).

Procedimiento:

- Tener los recipientes, charolas de aluminio a peso constante en la estufa a 60°C.
- Pesar de 2 a 5 gramos de muestra en los recipientes tarados.
- Secar en la estufa hasta peso constante.
- Enfriar en el desecador.
- Pesar.

Cálculo:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso del recipiente} - \text{Peso del recipiente con la muestra}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

2.- Determinación de Nitrógeno (60).

Analizador Automático Kjeltec 1030.

Reactivos:

- Acido sulfúrico concentrado, reactivo libre de nitrógeno.
- Pastillas Kjeltabs 3.5, tipo S/3.5 (Se) y K/3.5 (K).
- Hidróxido de sodio, grado reactivo analítico 35-40%.
- Acido bórico al 4%.
- Verde de bromocresol, rojo de metilo como solución indicadora.

Preparación:

Disuelva 400 gramos de ácido bórico en 6 litros de agua hervida, caliente y desionizada. Mezcle y añada hasta un volumen de 9 litros de la misma agua hervida. Deje enfriar.

Cuando la solución esté a la temperatura ambiente agregue 100 ml de solución de verde de bromocresol y 70 ml de solución de rojo de metilo. Diluya a 10 litros, con agua desionizada y mezcle cuidadosamente, transfiera 25 ml de la solución de ácido bórico a un frasco de recepción y destile un blanco. Titule con una solución 0.1 N

de hidróxido de sodio hasta obtener el color deseado. Calcule la cantidad de hidróxido de sodio necesario para ajustar la solución de ácido bórico en el recipiente de 10 litros.

f) Solución ácida estándar, HCl o H_2SO_4 . Dependiendo de la muestra y el contenido de nitrógeno, la solución estándar usada, varía de 0.05 Normal a 0.5 N para la titulación de la solución del frasco de recepción.

Material:

Seque y mezcle bien la muestra, pese de 0.5 a 1 gramo de muestra en papel arroz. Marque los tubos de digestión y frascos de recepción con números consecutivos. Asegurese siempre que los tubos de digestión estén secos y limpios antes de usar.

Equipo:

- 1.- Digestor con control de temperatura.
- 2.- Soporte para 20 tubos.
- 3.- Una placa de retención.
- 4.- Un juego de tubos de digestión.
- 5.- Flacas protectoras de calor.
- 6.- Termómetro especial de chequeo.
- 7.- Pipeteador automático, ajustable de 1 a 10 ml y de 10 a 30 ml.
- 8.- Sistema de extracción de gases con sistema de succión de agua.
- 9.- Campana de extracción.
- 10.- Baño de neutralización de gases.
- 11.- Un juego de frascos de recepción.
- 12.- Gradilla, balanza, guantes, bata y lentes de protección.

A continuación se describe el procedimiento general para la digestión, destilación y titulación del material biológico.

Procedimiento:

1.- Agregue catalizador (sulfato de potasio y selenio) a cada uno de los tubos con la muestra a analizar.

2.- Agregue ácido sulfúrico (12 ml) del recipiente y mezcle cuidadosamente con el agitador recomendado.

3.- Coloque el soporte de los tubos de digestión con las muestras preparadas al lado del digestor y coloque el sistema de extracción de humos en el tope del mismo. Aplique vacío (con el baño neutralizador o con el aspirador de agua), al máximo.

4.- Coloque el soporte, tubos y sistema de extracción de humo en el digestor precalentado, normalmente a 420°C. Coloque las pantallas deflectoras de calor.

5.- Digiera durante 3-5 minutos con un vacío máximo.

6.- Continúe la digestión hasta que esté completa. Remueva el soporte con los tubos y sistema de extracción de humo y colóquelos en el soporte de enfriamiento al lado del digestor. Aumente el vacío si es necesario.

7.- Tan pronto como las muestras se hayan enfriado deben ser diluidas con unos 75 ml de agua, mezcle bien, use guantes para su protección. El agua que se agregue debe ser tibia para evitar reacciones violentas.

8.- Vierta ácido bórico a los frascos de recepción correspondiente al número de tubos de digestión usados.

9.- Coloque un frasco de recepción en la posición superior de la unidad de destilación.

10.- Fije el tubo de digestión preparado al soporte correspondiente del destilador, comience la destilación y fije el tiempo de destilación en 3 minutos.

11.- Cuando la destilación se haya completado, pare la destilación y remueva el tubo de digestión con el residuo y colóquelo nuevamente en el soporte de enfriamiento.

12.- Remueva el frasco de recepción y colóquelo en la cesta o gradilla, continúe con la próxima muestra desde el paso No. 9.

13.- Titule la solución del frasco de recepción hasta el vire de color, automáticamente aparece el gasto de ácido en la pantalla, ano-

te también el valor del blanco. Corra un blanco nuevo, tan pronto cambie a un nuevo lote de cualquiera de los reactivos o al menos una vez al día.

14.- Cuando todos los tubos de digestión en el soporte han sido destilados, vacíe, lave y seque los tubos.

15.- Calcule el % de Nitrógeno o de % de proteína cruda usando las siguientes fórmulas:

$$\% N = \frac{14.01 \times \frac{\text{ml de titulante de la muestra} - \text{ml de titulante del blanco}}{\text{gramos de muestra}} \times \text{Normalidad del ácido estándar}}{100}$$

% de proteína = % N X factor específico para diferentes productos.

3.- Determinación de cenizas (5).

Procedimiento:

- a) Poner los crisoles a peso constante.
- b) Pesar 5 gramos de muestra en el crisol tarado.
- c) Carbonizar bajo la flama de un mechero, hasta que no haya desprendimientos de humos.
- d) Calcinar en la mufla por 3 horas cuidando que la temperatura no sea superior a los 550°C.
- e) Enfriar en la estufa por 10 minutos a 100°C.
- f) Pasarlos al desecador para que se enfríen.
- g) Pesa los crisoles.
- h) Añadir a las cenizas dos gotas de agua.
- g) Evaporar dicha agua con un mechero.
- h) Pasar los crisoles a la mufla por 30 minutos, pasado este tiempo enfriarlos como se describió antes y pesar.

Cálculo:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Peso del crisol} + \text{cenizas} - \text{Peso del crisol solo}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

A N E X O II

DETERMINACION DE FRACCIONES DE FIBRA (30).

1.- Determinación de paredes celulares por la técnica de detergente neutro.

Reactivos:

Solución detergente neutra: A un litro de agua destilada, agregar 30 gramos de lauril sulfato de sodio, 18.61 gramos de E.D.T.A., 6.81 gramos de borato de sodio, 4.56 gramos de fosfato disódico. Agite hasta disolver y controle el pH para que se mantenga entre 6.9 y 7.1.

Acetona.

Procedimiento:

- a) Pesar 0.5 gramos de muestra seca, molida a través de una criba y colocar en un vaso Berzelius.
- b) Adicionar 100 ml de solución detergente neutro a temperatura ambiente.
- c) Adaptar el aparato de reflujo y calentar de tal manera que se inicie la ebullición a los 5 o 10 minutos e inmediatamente disminuir la temperatura para evitar la formación de espuma y desde ese momento dejar hervir durante 60 minutos.
- d) Filtrar la muestra con ayuda de vacío a través de un crisol Gooch con fondo de porosidad gruesa, previamente puesto a peso constante.
- e) Lavar con agua caliente (80°C) varias veces suspendiendo el vacío, cada vez que se agregue el agua para remover bien la muestra y finalmente lavar dos veces con acetona.

Nota: Dejar la acetona aproximadamente un minuto y aplicar lentamente el vacío.

- f) Secar a 100°C durante 8 horas o durante toda la noche hasta peso constante.
- g) Enfriar en el desecador y pesar.

Cálculo:

$$\% \text{ Paredes Celulares} = \frac{\text{Peso del crisol} + \text{muestra} - \text{Peso del crisol} - \text{vacío}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ Contenido Celular} = 100 - \% \text{ Paredes Celulares.}$$

2.- Determinación de fibra por la técnica de detergente ácido (F.D.A.).

Reactivos:

Solución detergente ácido: Adicionar 20 gramos de bromuro de cetil trimetil amonio, por litro de solución 1 N de H_2SO_4 .

Acetona.

Procedimiento:

- Colocar 0.5 gramos de muestra en un vaso Berzelius.
- Agregar 100 ml de solución detergente ácida.
- Adaptar en el aparato de reflujo y calentar de tal manera que empiece a hervir entre 5 a 10 minutos, inmediatamente disminuir la temperatura para evitar la formación de espuma y desde este momento dejar en ebullición durante 60 minutos.
- Filtrar la muestra con ayuda de vacío a través de un crisol Gooch con fondo de porosidad gruesa, previamente puesto a peso constante.
- Lavar de 2 a 3 veces con agua caliente.
- Adicionar la acetona y dejar reposar aproximadamente un minuto, aplicar el vacío, repetir la operación de 3 a 4 veces.
- Secar a $100^{\circ}C$ durante 8 horas o durante toda la noche.
- Enfriar en el desecador y registrar el peso.

Cálculo:

$$\% \text{ FDA} = \frac{\text{Peso del crisol} + \text{muestra} - \text{Peso del crisol} - \text{vacío}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ Hemicelulosa} = \% \text{ Paredes Celulares} - \% \text{ FDA}$$

3.- Determinación de lignina y celulosa por el método de oxidación

por permanganato.

Reactivos:

Solución de permanganato: Disolver 50 gramos de $KMnO_4$ por litro de agua destilada. Manténgase la solución protegida del sol.

Solución amortiguadora: En 100 ml de agua destilada, disolver 6 gramos de nitrato férrico y 0.15 gramos de nitrato de plata. Por otro lado, disolver 5.0 gramos de acetato de potasio en 500 ml de ácido acético glacial. Mezclar esta solución con la anterior. Adicionar a la mezcla resultante 400 ml de alcohol terbutílico y homogenizar.

Solución desmineralizadora: Disolver 50 gramos de ácido oxálico en 700 ml de alcohol etílico, agregar 50 ml de HCl concentrado y 250 ml de agua destilada y homogenizar.

Solución de permanganato combinada: Mezclar en proporción 2:1 (V/V) la solución de permanganato de potasio y la solución amortiguadora.

Nota: Hacer la mezcla poco antes de usarla, preparar únicamente la cantidad necesaria.

Alcohol etílico al 80%: Mezcle 155 ml de agua destilada y 845 ml de alcohol etílico.

Acetona.

Procedimiento:

Nota: El residuo fibroso de la determinación de fibra detergente ácido, se utiliza para estas determinaciones, basándose en el peso original de la muestra.

- a) En una bandeja de vidrio que contenga previamente 1 ml de agua destilada, colocar el crisol Gooch que contiene la fibra detergente ácido.
- b) Adicionar 25 ml de solución de permanganato combinada a cada crisol ajustando el nivel de agua al nivel del líquido dentro del crisol, con el fin de reducir la corriente de paso de la solución a través del crisol.
- c) Remover el contenido del crisol con una varilla de vidrio, deshacer

los grumos de tal manera que todas las partículas de la muestra reaccionen con la solución.

d) Dejar reposar la muestra durante 90 minutos a una temperatura de 20 a 25°C. Adicionar más reactivo si el volumen disminuye considerablemente.

e) Pasado el tiempo de oxidación, filtrar lentamente a través del crisol.

f) Sin lavar la muestra, colocar nuevamente los crisoles en la bandeja limpia y adicionar la solución desmineralizadora hasta la mitad de los crisoles, dejar reaccionar durante 5 minutos.

g) Filtrar con la ayuda del vacío, repetir la operación (f), hasta lograr que el contenido del crisol sea blanco.

Nota: Si es necesario, dejar reaccionar por 20 o 30 minutos el contenido del crisol con la solución desmineralizadora.

h) Lavar 2 veces con etanol y filtrar con vacío.

i) Lavar 2 veces con acetona y filtrar con vacío, lentamente.

j) Secar a 100°C durante 8 horas, enfriar en el desecador y pesar.

Nota: El residuo está constituido por celulosa.

$$\% \text{ Lignina} = \frac{\text{gramos de lignina} \times 100}{\text{gramos de la muestra}}$$

Los gramos de lignina se calcula haciendo la diferencia entre el peso de FDA y el peso registrado de la fibra después del tratamiento con el permanganato.

Celulosa:

Procedimiento:

a) El residuo después del tratamiento con permanganato se calcina a 550°C durante 3 horas. Enfriar en el desecador y pesar.

Cálculo:

$$\% \text{ Celulosa} = \frac{\text{gramos de celulosa} \times 100}{\text{gramos de muestra}}$$

A N E X O III

ESTIMACION DE DIGESTIBILIDADES DE MATERIA SECA (D.M.S.).

1.- Desaparición de la materia seca en el rumen in situ empleando bolsas de nylon (65).

- a) Con la tela de nylon, se hacen bolsas de 12 X 7 cm, los bordes de las mismas se unen con una costura doble, así mismo, se redondea para evitar la acumulación de alimento en las esquinas.
- b) Lavar las bolsas y secar a 60°C.
- c) Pesar las bolsas.
- d) Introducir 3 gramos de muestra seca y poner a peso constante a una temperatura de 60°C durante toda la noche y pesar.
- e) Los extremos de la bolsa se cierran con una liga.
- f) Posteriormente, las bolsas se amarran con un hilo de nylon, dejando un espacio de 20 cm entre cada bolsa.

Nota: Generalmente en pequeños rumiantes se introducen al rumen únicamente 5 bolsas a la vez.

- g) Las bolsas se mojan e introducen al rumen, el hilo de nylon se asegura a la cánula.
- h) Las bolsas se incuban durante 24 horas.
- i) Las bolsas se lavan al chorro del agua, hasta que el agua de enjuague salga completamente incolora, posteriormente se secan a 60°C durante toda la noche.
- j) Se pasan a un desecador para que se enfríen y se pesan.

Cálculo:

$$\% \text{ D.M.S.} = \frac{\text{Peso de la bolsa + muestra antes de incubar} - \text{Peso de la bolsa + muestra después de incubar.} \times 100}{\text{Peso de la muestra}}$$

2.- Digestibilidad in vitro de los alimentos por el método modificado de Minson y McLeod (67).

Reactivos:

1) Solución amortiguadora de McDougal.

Solución 1

Na_2HPO_4 anhídrido 3.7 gramos.

NaHCO_3 9.8 gramos.

Agregar en agua destilada hasta un litro.

Solución 2

NaCl 4.7 gramos.

KCl 5.7 gramos.

CaCl_2 0.4 gramos.

MgCl_2 0.6 gramos.

Agregar en agua destilada hasta 100 ml.

Procedimiento:

La solución amortiguadora se prepara adicionando 10 ml de la solución 2 a un litro de la solución 1. Se agita la mezcla durante unos minutos.

a) Pesar dentro de un tubo de centrifuga, 0.25 gramos de muestra seca.

b) Obtener el contenido ruminal de ovinos fistulados.

c) Conservar el líquido ruminal caliente y tapado, filtrar rápidamente a través de gasa.

d) Adicionar 250 ml del líquido ruminal por cada litro de solución amortiguadora a 40°C y tomar el pH que debe ser de 6.8 a 7.0.

e) Burbujear CO_2 a la solución amortiguadora y al inóculo durante 60 minutos, manteniendo la temperatura constante de 40°C .

f) Adicionar a cada tubo 25 ml del amortiguador inóculo y tapar los tubos.

g) Incubar los tubos en el baño metabólico a 39°C por 48 horas.

h) Incubar también dos blancos.

i) Pasadas las 48 horas, se centrifuga a 2500 r.p.m. durante 10 minutos.

j) Decantar.

2.- Digestión en pepsina.

Solución de pepsina ácida.

Reactivos:

HCl 0.1 N.

Pepsina ácida (cuajo).

Procedimiento:

a) Homogenizar 4 ml de pepsina ácida en un litro en una solución de 0.1 N de HCl, esta solución se prepara únicamente el día que se va a emplear, debe de tener una temperatura de 40°C con un pH de 1.5 .

b) Adicionarle a cada tubo de centrifuga 25 ml de la solución de pepsina ácida.

c) Tapar los tubos e incubarlos durante 48 horas.

3.- Filtración.

Acetona.

Agua destilada.

Crisoles Gooch.

Procedimiento:

a) Filtrar el contenido del tubo a través de los crisoles Gooch previamente puestos a peso constante.

b) Lavar con agua varias veces el tubo, hasta que no quede ningún residuo.

c) Lavar con acetona varias veces.

d) Secar a 60°C durante toda la noche.

e) Pasar a un desecador para enfriar los crisoles y pesarlos.

Cálculo:

$$\text{residuo} = \frac{\text{Peso del crisol} + \text{Peso del crisol}}{\text{muestra.}} - \frac{\text{Peso del crisol}}{\text{solo.}}$$

$$\% \text{ D.M.S.} = \frac{\text{Peso de la muestra} - (\text{residuo} - \text{blanco}) \times 100}{\text{Peso de la muestra}}$$

A N E X O IV

TECNICA DE PISTULACION.

La técnica de fistulación de los borregos consistió en una intervención de dos tiempos (16, 35).

En el primer tiempo se hizo la incisión 3 cm atrás de la última costilla y a 3 cm de la apófisis transversa de la primera vértebra lumbar hacia la línea media, en seguida se incidieron los planos anatómicos correspondientes hasta llegar a la pared ruminal, se tomó un pliegue de esta pared la cual fue expuesta al exterior en donde se colocó un "clamps" de acero inoxidable de 11 cm.

Posteriormente, se hicieron dos puntos de sutura uno a cada extremo de la incisión, atravesando todos los planos de la pared abdominal y se sujetaron al "clamps".

De siete a diez días después del primer tiempo, el contenido ruminal apareció en el fondo del animal como resultado de la necrosis, en ese momento fueron removidos los "clamps" junto con el pliegue ruminal necrosado, se quitaron los puntos de sutura y quedó así una fístula ruminal adherida a la pared abdominal. Posteriormente, se insertó una cánula flexible de Harret para evitar que se derramara el contenido ruminal.

LITERATURA CITADA

- 1.- Akin, D.E. and Barton, F.E.: Rumen microbial attachment and degradation of plant cell walls. *Fed.Proc.* 42; 114-121 (1983).
- 2.- Al-Rabbat, M.F. and Heaney, D.P.: The effects of anhydrous ammonia treatment of wheat straw and steam cooking of aspen wood on their feeding value and on ruminal microbial activity. I. Feeding value assessments using sheep. *Can.J.Anim.Sci.* 58; 443-451 (1978).
- 3.- Al-Rabbat, M.F. and Heaney, D.P.: The effects of anhydrous ammonia treatment of wheat straw and steam cooking of aspen wood on their feeding value and on ruminal microbial activity. II. Fermentable energy and microbial growth derived from ammonia nitrogen in the ovine rumen. *Can.J.Anim.Sci.* 58; 453-463 (1978).
- 4.- Aguilera, B.A.: Evaluación del efecto de la suplementación de rastrojo amoniatizado sobre la cinética ruminal y digestibilidad en borregos pelibuey. Tesis de Maestro en Ciencias. Especialidad en Nutrición Animal. Fac. de Estudios Superiores Cuautitlán. México, D.F. (1988).
- 5.- A.C.A.C.: Official Methods of Analysis, 2ed. Association of Official Agricultural Chemists. Ed. Washington, D.C. (1975).
- 6.- Anderson, A.W. and Anderson, J.F.: On finding a use for straw. In *Utilization and Recycle of Agricultural Wastes and Residues*. M.L. Shuler, Ed. CRC. Press. Inc. 246-265, Boca Baton, Florida (1980).
- 7.- Baldwin, R.L., Lucas, H.L. and Cabrera, R.: Energetic relationship in the formation and utilization of fermentation end products. In *Physiology of Digestion and Metabolism in the ruminant*. Edited by Phillipson, A.T., Oriel Press Limited. Newcastle, England. 319-334 (1970).
- 8.- Baldwin, R.L. and Allison, R.L.: Metabolism of the rumen. *J.Anim.Sci.* 57, Suppl. 2 (1983).
- 9.- Bales, G.L., Kellogg, W.D. and Scott, N.U.: Effects of certain inorganic elements and urea on in vitro matter disappearance of milo stalks. *J.Anim.Sci.* 47 (2): 561-568 (1978).
- 10.- Barnes, R.F.: Use of in vitro rumen fermentation techniques for estimating forage digestibility and intake. *Agron.J.* No. 2377. Purdue University Agricultural Experiment Station,

- 11.- Bass, M.J., Parkins, J.J. and Fishwick, G.: The effect of calcium hydroxide treatment on the digestibility of chopped oat straw supplemented with a solution containing urea, calcium, phosphorus, sodium, trace elements and vitamins. *Anim. Feed. Sci. and Technol.* 7; 93-100 (1982).
- 12.- Berger, L.L.: Effect of harvest date and chemical treatment on feeding value of corn stalklage. *J. Anim. Sci.* 49; 1312-1316 (1979).
- 13.- Boila, R.J. and Saver, F.D.: Evaluation of two-stage technique for in vitro stimulation of the dry matter digestibility of corn silage. *Can. J. Anim. Sci.* 60; 367-378 (1980).
- 14.- Borhami, B.E.A. and Sundstøl, F.: Studies on ammonia-treated straw. I. The effects of type and level of ammonia, moisture content and treatment time on the digestibility in vitro and enzyme soluble organic matter of oat straw. *Anim. Feed. Sci. and Technol.* 7; 45-51 (1982).
- 15.- Briseño, H.V.: Maíz forrajero para ensiler en el valle de México Circular CIAMEC No. 79, I.N.I.A. S.A.R.H. (1977).
- 16.- Brown, G.F., Armstrong, D.G. and MacRae, J.C.: The establishment in one operation of a cannula into the rumen and re-entrant cannulae into the duodenum and ileum of the sheep. *Br. Vet. J.* 124; 78-82 (1968).
- 17.- Bryant, M.P.: Bacterial species of the rumen. *Bact. Rev.* 23; 125-153 (1959).
- 18.- Bryant, M.P.: Symposium on microbial digestion in ruminants. Identification of groups of anaerobic bacteria active in the rumen. *J. Anim. Sci.* 22; 801-813 (1963).
- 19.- Bryant, M.P.: Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. *Fed. Proc.* 32; 1809-1813 (1973).
- 20.- Calderón, G.F., Rojas, R., Shimada, A.S. y Peraza, C.: Alimentación de becerros con rastrojo de maíz tratado con álcali. *Vet. México*, 6; 9-95 (1975).
- 21.- Capper, B.S., Morgan, D.J. and Parr, W.H.: Alkali treated roughages for feeding ruminants, a review. *Tro. Sci.* 19; 73-83 (1977).
- 22.- Cross, H.H., Smith, L.W. and Debarth, J.V.: Rates of in vitro

forage fiber digestion as influenced by chemical treatment. J. Anim. Sci. 39 (4): 808-812 (1974).

- 23.- Cheng, K.J., Stewart, C.S., Dinsdale, D. and Costerton, J.W.: Electron microscopy of bacteria involved in the digestion of plant cell wall. Anim. Feed. Sci. and Technol. 10; 93-120 (1984).
- 24.- Dehority, B.A.: Hemicellulose degradation by rumen bacteria. Fed. Proc. 32; 1819-1825 (1973).
- 25.- Deville, J., Figon, C. y Sylvie Emmanuel.: Comparación de la degradabilidad del rumen de algunos alimentos por medio de la técnica de la bolsa de fibra artificial. Pro. Anim. Tro. 5; 54-57 (1980).
- 26.- Dixon, R.M. y Escobar, A.: Tratamiento con alcalis del pasto Pennisetum purpureum. I. Efecto del tratamiento con NaOH, Ca(OH)₂, NH₄OH y urea sobre la digestibilidad en bolsas de nylon. Proc. Anim. Trop. 9; 1, 58-66 (1984).
- 27.- Dukes, H.H. and Swenson, M.J.: Fisiología de los Animales Domésticos. Colección Ciencia y Técnica. Aguilar. Tomo I. 613-623 cap. 23 (1981).
- 28.- Ganev, G., Orskov, E.R. and Smart, R.: The effect of roughages or concentrate feeding and rumen retention time on total degradation in the rumen. J. Agric. Sci. Camb. 93 (3); 651-656 (1979).
- 29.- Glewen, M.J. and Young, A.W.: Effect of ammoniation on the refermentation of corn silage. J. Anim. Sci. 54 (4); 717 (1982).
- 30.- Goering, H.K. and Van Soest, P.J.: Forage fiber analyses. Agriculture, Handbook 379, Department of Agriculture. Washington, D.C. U.S.A. (1975).
- 31.- Gómez, P.A.: Biología; Unidad, Diversidad y Continuidad de los seres vivos. C.E.C.S.A. 151 (1970).
- 32.- Gordon, A.H. and Chesson, A.: The effect of prolonged storage on the digestibility and nitrogen content of ammonia-treated barley straw. Anim. Feed. Sci. and Technol. 8; 147-153 (1983).
- 33.- Graham, H. and Aman, P.A.: Influence of heat sterilization and ammoniation on straw composition and degradation by pure cultures of cellulolytic rumen bacteria. Anim. Feed. Sci. and Technol. 12; 195-203 (1985).

- 34.- Gutiérrez, L.H.A.: Influencia del rastrojo de maíz tratado con hidróxido de calcio y amoníaco anhídrido sobre la fermentación ruminal en ovinos. Pesis de Lic. Fac. Med. Vet. Zoot. U.N.A.M., México. D.F. (1987).
- 35.- Hecker, J.F.: A simple rapid method for inserting rumen cannulae in sheep. Aust. Vet. J. 45 (6); 293-294 (1969).
- 36.- Hellen, Van, R.W. and Ellis, W.C.: Sample container porosities for rumen in situ studies. J. Anim. Sci. 44(1); 141-146 (1977).
- 37.- Herrera-Saldaña, R., Church, D.C. and Kellems, R.O.: The effect of ammoniation treatment on intake and nutritive value of wheat straw. J. Anim. Sci. 54; 603-607 (1982).
- 38.- Hobson, P.N.: The microflora of the rumen. Patterns of Progress. Meadoufiel. Press Ltd. England. (1976).
- 39.- Holecheck, J., Vavra, L.M. and Pieper, R.D.: Botanical composition determination of range herbivore diets. J. Range Manage. 35(3); 309-315 (1982).
- 40.- Horton, G.M.J. and Steacy, G.M.: Effect of anhydrous ammonia treatment on the intake and digestibility of cereal straws by steers. J. Anim. Sci. 48(5); (1979).
- 41.- Hungate, R.E.: The rumen and its microbes. Academic Press. New York and London (1966).
- 42.- Jackson, M.G.: Review Article: The alkali treatment of straws. Anim. Feed. Sci. and Technol. 2; 105-130 (1977).
- 43.- Jackson, M.G.: Métodos de tratamiento de la paja para alimentación animal. Estudios FAO de producción y sanidad animal. 10, Roma, 38-43 (1978).
- 44.- James, B.N.: Evaluation of specific variables affecting in situ estimates of ruminal dry matter and protein digestion. J. Anim. Sci. 60(5); 1347-1357 (1985).
- 45.- Jayassexiya, M.C.N.: La urea como un origen del nitrógeno no proteico para rumiantes. Dos efectos como un origen no proteico sobre la digestibilidad de la toma voluntaria por ovejas alimentadas con paja de arroz tratado con álcali. J. National. Sci. of Sri. Lanka. 8(1); 61-67 (1980).

- 46.- Jiménez, D.A.L.: Comportamiento del borrego pelibuey en crecimiento compensatorio, alimentado a base de rastrojo de maíz tratado con álcalis (NaOH, NH₃, Urea). Tesis de Lic. Fac. Med. Vet. Zoot. U.N.A.M. México, D.F. (1984).
- 47.- Jouany, J.P. and Senaud, J.: Role of rumen protozoa in the digestion of food cellulosic materials. *Am. Rech. Vet.* 10; 261-263 (1979).
- 48.- Jung, H.G. and Fahey, G.C. jr.: Nutritional implications of phenolic monomers and lignin; review. *J. Anim. Sci.* 57; 206-219 (1983).
- 49.- Jung, H.G. and Vogel, K.P.: Influence of lignin on digestibility on forage cell wall material. *J. Anim. Sci.* 62; 1703-1712 (1986).
- 50.- Jurado, A.J.: Optimización del tratamiento alcalino de la paja de trigo mediante pruebas de digestibilidad en ovinos. Tesis de Lic. Fac. Med. Vet. Zoot. U.N.A.M. México, D.F. (1988).
- 51.- Kempton, T.J.: El uso de las bolsas de nylon para caracterizar el potencial de degradabilidad de alimentos para el rumiante. *Prod. Anim. Trop.* 5(2); 115-126 (1980).
- 52.- Keuren, Van, R.W. and Heinemann, W.W.: Study of nylon bag technique for in vivo estimation of forage digestibility. *J. Anim. Sci.* 21(2); 340-345 (1962).
- 53.- Klopfenstein, T.J., Krause, V.E., Jones, M.J. and Woods, W.: Chemical treatment of low quality roughages. *J. Anim. Sci.* 35; 418-422 (1972).
- 54.- Klopfenstein, T.J.: Chemical treatment of crop residues. *J. Anim. Sci.* 46; 841 (1978).
- 55.- Lesoing, G., Klopfenstein, T.J., Rush, I. and Ward, J.: Chemical treatment of wheat straw. *J. Anim. Sci.* 51(2); (1981).
- 56.- Lomas, L.W., Fox, D.G. and Black, J.R.: Ammonia treatment of corn silage. I. Feedlot performance of growing and finishing steers. *J. Anim. Sci.* 55(4); 909-923 (1982).
- 57.- Lusk, J.W., Browning, C.B. and Miles, T.J.: Small sample in vivo cellulose digestion procedure for forage evaluation. *J. Dairy. Sci.* 45(1); 69-73 (1962).

- 58.- Llamas, L.G., Ward, J.K. and Klopfenstein, T.: Tratamiento de paja de trigo con amoníaco gaseoso y su efecto en la digestibilidad in vivo con borregos y en el comportamiento de vacas gestantes. Reunión de Inv. Fec. México, D.F., 326-330 (1982).
- 59.- Males, J.R. and Gaskins, C.T.: Growth, nitrogen retention dry matter digestibility and ruminal characteristics associated with ammoniated wheat straw diets. J. Anim. Sci. 55(3); 505-515 (1982).
- 60.- Manual del Analizador Automático Kjeltec 1030. Para la determinación de contenido de nitrógeno con el sistema automático Kjeltec. 3-8 (1981).
- 61.- Martín, L.C., Ammerman, C.B., Henry, F.A. and Loggins, P.E.: Effect of level and form of supplemental energy and nitrogen on utilization of low quality roughage by sheep. J. Anim. Sci. 53(2) 479-488 (1981).
- 62.- Martínez, A.A.M.: Crecimiento de borregos pelibuey alimentados con rastrojo de maíz tratado con amoníaco anhidro. Tesis de Lic. Fac. Med. Vet. Zoot. U.N.A.M. México, D.F. (1985).
- 63.- Martínez, A.M., Soriano, T. y Shimada, A.S.: Crecimiento de borregos pelibuey alimentados con rastrojo de maíz tratado con amoníaco anhidro. Memorias de la Reunión de Investigaciones Pecuarias. México, D.F. 40-42 (1984).
- 64.- McAllan, A.B. and Smith, R.H.: Carbohydrate metabolism in the ruminant bacterial carbohydrates formed in the rumen and their contribution to digesta entering the duodenum. Br. J. Nutr. 31; 77-87 (1974).
- 65.- Mehrez, A.Z. and Orskov, E.R.: A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. J. Agric. Sci. Camb. 88(3); 645-650 (1977).
- 66.- Meléndez, A., Sánchez, E. y Márquez, F.: Cambios en la composición química y digestibilidad in vitro de la paja de trigo tratada con compuestos alcalinos. Resúmenes de la XIII Reunión del I.N.I.P. México, (1976).
- 67.- Winson, D.J. and McLeod, M.N.: The in vitro techniques its modification for estimating digestibility of large numbers of tropical pasture samples. Division of Tropical Pasture, Technical paper No. 8 Research. Organization Australia. 1-5 (1972).

- 68.- Morrison, F.B.: Compendio de alimentación del ganado, Hispano-Americano, 2ed. México. 276-280 (1966).
- 69.- Morrison, I.M. and Brice, R.E.: The digestion of untreated and ammonia-treated barley straw in an artificial rumen. Anim. Feed. Sci. and Technol. 10; 229-238 (1984).
- 70.- Morris, P.J. and Mowat, D.N.: Nutritive value of ground and/or ammoniated corn stover. Can. J. Anim. Sci. 60; 327-336 (1980).
- 71.- Neathery, M.V.: Dry matter disappearance of roughages in nylon bags suspended in the rumen. J. Dairy. Sci. 52(1); 74-78 (1969).
- 72.- Oji, U.I., Mowat, D.N. and Winch, J.E.: Alkali treatments of corn stover to increase nutritive value. J. Anim. Sci. 44(5); 798-802 (1977).
- 73.- Oji, U.I. and Mowat, D.N.: Nutritive value of the thermoammoniated and steam-treated maize stover. I. Intake, digestibility and nitrogen retention. Anim. Feed. Sci. and Technol. 4; 177-186 (1979).
- 74.- Crpin, C.G.: The role of ciliate protozoa and fungi in the rumen digestion of plant cell walls. Anim. Feed. Sci. and Technol. 10; 121-143 (1984).
- 75.- Orskov, E.R. and McDonal, I.: Estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. J. Agric. Sci. Camb. 92(2); 499-503 (1979).
- 76.- Orskov, E.R., Hovell, DeB, F.D. and Mould, F.: Uso de las técnicas de la bolsa de nylon para la evaluación de los alimentos. Prod. Anim. Trop. 5(3); 213-223 (1980).
- 77.- Osbourn, D.F. and Terry, R.A.: In vitro techniques for the evaluation of ruminant feeds. Prod. Nutr. Soc. 36; 219-224 (1977).
- 78.- Perdomo, T.J., Shirley, R.L., and Chicco, C.F.: Availability of nutrient minerals in four tropical forages fed freshly to sheep. J. Anim. Sci. 45(5); 114-119 (1977).
- 79.- Phillipson, A.L.: Physiology of digestion and metabolism in the ruminant. 1ed. Ed. Oriel Press. Inglaterra. 311-313 (1970).

- 80.- Pigden, W.J. and Bender, F.: Aprovechamiento de la lignocelulosa por los rumiantes. Rev. Mundial de Zoot. 4; 7-10 (1972).
- 81.- Pigden, W.J. and Heaney, D.P.: Lignocelulose in ruminant nutrition. In celuloses and ther aplications. Washintong, D.C. American Chemical Society. Advances in Chemistry. Series 96, 245-261 (1969).
- 82.- Rounds, W., Klopfenstein, T., Waller, J. and Massermith, P.: Influence of alkali treatments of corncobs on in vitro dry disappearance and lamb performance. J. Anim. Sci. 43; 478 (1976).
- 83.- Saenger, P.F., Lemenager, R.F. and Hendrix, K.S.: Anhydrous ammonia treatment of corn stover and its effects on digestibility, intake and performance of beef cattle. J. Anim. Sci. 54(2) 419-424 (1982).
- 84.- Sánchez, E.J.: Cambios en la composición química y digestibilidad de forrajes de baja calidad nutritiva, mediante el uso de diversos compuestos químicos. Tec. Pec. México. 31; 68-74 (1976).
- 85.- Schuerch, C. and Davidson, R.W.: Plasticizing wood with ammonia control of color changes. J. Pol. Sci. Part.C. 36; 231 (1971).
- 86.- S.A.R.H.: Dirección de Alimentación Animal y Recursos Forrajeros. Dirección General Normativa Pecuaria, México. (1985).
- 87.- Smith, T., Grigera-Naón, J.J., Broster, W.H. and Sister, J.W.: Ammonia versus sodium hydroxide treatment of straw for growing cattle. Anim. Feed. Sci. and Technol. 10; 173-188 (1984).
- 88.- Smith, R.H. and McAllan, A.B.: Some factors influencing the chemical composition of mixed rumen bacteria. Br. J. Nutr. 31; 27-34 (1974).
- 89.- Soofi, R., Fahey, G.C. and Berger, L.L.: In situ and in vivo digestibilities and nutrient intakes by sheep of alkali treated soybean stover. J. Anim. Sci. 55(5); 1206-1213 (1982).
- 90.- Sosa de Fró, E.: Manual de procedimientos analíticos para alimentos de consumo animal. (U.A.CH) Chapingo, México. 46-50 (1979).
- 91.- S.A.S. User's guide. Statistical analysis System. Instituto Inc, Carg. (1979).

- 92.- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H.: Principles and procedures of statistics. A biometrical approach. 2ed. Ed. McGraw Hill Kogakustla, Tokyo. (1980).
- 93.- Sundstøl, F., Coxworth, E. and Mowat, D.N.: Improving the nutritive value of straw and other low-quality roughages by treatment with ammonia. World Anim.Rev. 26; 13-21 (1978).
- 94.- Tomlin, D.C., Anderson, M.J. and Harris, L.E.: Refinements in the in vivo bag rumen technique. J. Anim. Sci. 26(4); 939-940 (abstracts) jul-nov (1969).
- 95.- Van Soest, P.J., Mascarenhas, F.A. and Hartley, R.D.: Chemical properties of fibre in relation to nutritive quality of ammonia-treated forages. Anim. Feed. Sci. and Technol. 10; 155-164 (1984).
- 96.- Weagepetersen, J. and Vestergaard, T.K.: Effect on digestibility and nitrogen content of barley straw of different ammonia treatments. Anim. Feed. Sci. and Technol. 2; 131-142 (1977).
- 97.- Waiss, A. Cjr., Guggolz, J., Kohler, G.D., Walker, H.G. and Garrett, N.N.: Improving digestibility of straws for ruminates fed by aqueous ammonia. J. Anim. Sci. 35(1); 109-111 (1972).
- 98.- Wenapat, M., Sundstøl, F. and Hall, J.M.R.: A comparison of alkali treatment methods used to improve the nutritive value of straw. II. In sacco and in vitro degradation relative to in vivo digestibility. Anim. Feed. Sci. and Technol. 14; 215-220 (1986).
- 99.- Wayne, F., Hale, W.H. and Brent, T.: An evaluation of the nylon bag technique for estimating rumen utilization of grains. J. Anim. Sci. 35(1); 113-120 (1972).
- 100.- Weakley, D.C., Stern, M.D. and Satter, L.D.: Factors affecting disappearance of feedstuffs from bags suspended in the rumen. J. Anim. Sci. 56(2); 439-507 (1983).
- 101.- Wolin, J.M. and Terry, L.M.: Interactions of microbial populations in cellulose fermentation. Fed. Proc. 42; 109-113 (1983).
- 102.- Zorrilla, R.J.: Valor nutritivo de pajas y rastrojos para ruminantes. I.N.I.P. Alimentación Aplicada 1^o parte fascículo 5. (1982).

- 103.- Zorrilla, R.J.: Valor nutritivo de pajas y rastrojos para rumiantes. I.N.I.F. Alimentación Aplicada 2^o parte fascículo 6 (1982).
- 104.- Zorrilla, R.J.: Valor nutritivo de pajas y rastrojos para rumiantes. 2o. Congreso Nacional de AMENA. Veracruz, México. (1981).