

11643

~~11643~~

1

29

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**Facultad de Estudios Superiores
"Cuautitlán"**

**Efecto de los pretratamientos químicos sobre
la composición del rastrojo de sorgo**

T E S I S

que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Especialidad en Nutrición Animal

presenta

Myriam Leal Pérez

Asesor: Ph.D. Armando S. Shimada

México, D.F.

1989





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 está 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.

RESUMEN

En el experimento 1 se trató rastrojo de sorgo picado, en un diseño completamente al azar, con NH_3 (5% b.s.) ó con SO_2 (5% b.s.) durante 21 días a temperatura ambiente; además en un segundo experimento se hizo el tratamiento combinado NH_3 - SO_2 (NS) con NH_3 durante 21 días seguido del tratamiento con SO_2 durante otros 21 días; también se realizó el tratamiento combinado SO_2 - NH_3 (SN) aplicando en primer lugar el SO_2 seguido del NH_3 , bajo las mismas condiciones. Cada tratamiento se hizo por triplicado.

Las variables de respuesta que se evaluaron (por duplicado) fueron las fracciones de nitrógeno (NT, N- NH_3 , N-FDA, NNP y NP), las fracciones de fibra (FDN, FDA, L y C), la materia seca (MS), el contenido de cenizas (Ce) y la DIVMS, ésta última por triplicado; También se observaron en el microscopio electrónico de barrido, los cambios ocurridos en los tejidos vegetales debido a los diferentes tratamientos químicos.

El tratamiento con NH_3 aumentó significativamente ($P \leq 0.01$) todas las fracciones de nitrógeno y disminuyó ($P \leq 0.01$) todas las fracciones de fibra; la DIVMS se incrementó ($P \leq 0.01$) el equivalente a un 24%. A nivel estructural el NH_3 provocó la deformación por hinchamiento de las células del parénquima.

El tratamiento con SO_2 incrementó ($P \leq 0.01$) el contenido de NT, N- NH_3 , N-FDA y NP, provocó la solubilización ($P \leq 0.01$) de la FDA, L y C; sin embargo la DIVMS no se mejoró ($P \leq 0.01$). Los tejidos vegetales del

parénquima, del mesófilo y del sistema vascular (xilema y floema) sufrieron una deformación por colapsamiento.

Los dos tratamientos combinados aumentaron ($P \leq 0.01$) el contenido de las fracciones de nitrógeno, respondiendo mejor el tratamiento SN; y disminuyeron ($P \leq 0.01$) el contenido de las fracciones de fibra, respondiendo mejor el tratamiento NS; sin embargo no hubo diferencia ($P \leq 0.01$) entre los dos tratamientos combinados en el mejoramiento de la DIVMS, con un incremento equivalente al 28%. El daño ocasionado a los tejidos fue mayor con los tratamientos combinados que con los tratamientos simples, prevaleciendo el efecto del último agente químico utilizado.

En un tercer experimento se hizo el tratamiento del rastrojo de sorgo con soluciones alcalinas obtenidas a partir de cenizas de rastrojo de sorgo, utilizando un diseño aleatorio en un arreglo factorial (3x3). El tamaño de la muestra fue de 10 g de rastrojo de sorgo molido (1 mm), los niveles de concentración de las soluciones utilizadas fueron 0, 5 y 10% (p/v) y los tiempos de remojo fueron 0, 6 y 12 horas. Cada tratamiento se hizo por triplicado.

Las variables de respuesta que se evaluaron (por triplicado) fueron pH de la solución antes y después del tratamiento, contenido de cenizas (Ce), fracciones de fibra (FDN, FDA, L y C) y la DIVMS.

Ninguno de los tratamientos tuvo efecto ($P \leq 0.05$) sobre las fracciones de fibra y la DIVMS. La concentración de la solución de cenizas y el tiempo de remojo influyen sobre el pH y el Ce.

Indice general

	Página
Dedicatoria.....	iii
Agradecimientos.....	iv
Indice general.....	vi
Indice de cuadros.....	viii
Indice de figuras.....	x
1. Introducción.....	1
2. Objetivos.....	4
3. Revisión de literatura.....	5
3.1 Tejidos vegetales.....	5
3.2 Anatomía vegetal.....	12
3.3 La pared celular vegetal.....	16
3.4 Principales esquilmos agrícolas.....	23
3.5 Valor nutritivo de los esquilmos agrícolas.....	25
3.6 Tratamientos químicos.....	29
4. Material y métodos.....	38
4.1 Experimento 1.....	38
4.2 Experimento 2.....	41
4.3 Experimento 3.....	43

5.	Resultados y discusión.....	46
	5.1 Experimento 1.....	46
	5.2 Experimento 2.....	64
	5.3 Experimento 3.....	71
6.	Conclusiones.....	79
7.	Apéndice.....	82
8.	Bibliografía.....	90

Índice de cuadros.

Cuadro	Página
3.1	Comparación de los diferentes tipos de microscopios.....14
3.2	Biosíntesis de los monómeros fenólicos de la lignina.....22
3.3	Disponibilidad nacional estimada de varios esquilmos agrícolas.....24
3.4	Usos de los esquilmos agrícolas.....26
3.5	Composición química de varios esquilmos agrícolas.....28
3.6	Efecto de la amoniatización de diferentes pajas sobre decremento en la composición lignocelulósica.....34
3.7	Efecto de la amoniatización de diferentes pajas sobre el incremento en la degradación de la lignocelulosa.....35
5.1	Medias ponderadas de las fracciones de nitrógeno y contenido de cenizas en el rastrojo de sorgo tratado con NH_3 ó con SO_247
5.2	Medias ponderadas de las fracciones de fibra y digestibilidad del rastrojo de sorgo tratado con NH_3 ó con SO_252
5.3	Medias ponderadas de las fracciones de nitrógeno y contenido de cenizas en el rastrojo de sorgo tratado con la combinación de NH_3 y SO_265
5.4	Medias ponderadas de las fracciones de fibra y la digestibilidad del rastrojo de sorgo tratado con la combinación de NH_3 y SO_267
5.5	Medias ponderadas de pH, contenido de cenizas y digestibilidad en rastrojo de sorgo tratado con soluciones alcalinas de cenizas de rastrojo de sorgo.....74
5.6	Medias ponderadas de las fracciones de fibra del rastrojo de sorgo tratado con soluciones alcalinas de

	cenizas de rastrojo de sorgo.....	77
7.1	Cuadrados medios de las fracciones de nitrógeno y contenido de cenizas del rastrojo de sorgo tratado con NH_3 ó con SO_2	83
7.2	Cuadrados medios de las fracciones de fibra del rastrojo de sorgo tratado con NH_3 ó con SO_2	84
7.3	Cuadrados medios de la digestibilidad del rastrojo de sorgo tratado con NH_3 ó con SO_2 y tratado bajo la combinación de NH_3 y SO_2	85
7.4	Cuadrados medios de las fracciones de nitrógeno y contenido de cenizas del rastrojo de sorgo tratado con NH_3 y SO_2	86
7.5	Cuadrados medios de las fracciones de fibra del rastrojo de sorgo tratado con NH_3 y SO_2	87
7.6	Cuadrados medios de las fracciones de fibra del rastrojo de sorgo tratado con soluciones alcalinas de cenizas de rastrojo de sorgo.....	88
7.7	Cuadrados medios del contenido de cenizas y la digestibilidad del rastrojo de sorgo tratado con soluciones alcalinas de cenizas de rastrojo de sorgo.....	89

Índice de figuras.

Figura	Página.
3.1 Algunos tipos de tejido mostrando solo las paredes celulares o la silueta de las células sin su contenido.....	8
3.2 Células de tejidos vegetales.....	11
5.1 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo no tratado (45 X).....	56
5.2 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo no tratado (150 X).....	57
5.3 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo tratado con NH_3 (45 X).....	58
5.4 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo tratado con NH_3 (150 X).....	59
5.5 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo tratado con SO_2 (45 X).....	61
5.6 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo tratado con SO_2 (200 X).....	62
5.7 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo tratado con $\text{NH}_3\text{-SO}_2$ (45 X).....	69
5.8 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo tratado con $\text{NH}_3\text{-SO}_2$ (150 X).....	70
5.9 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo tratado con $\text{SO}_2\text{-NH}_3$ (45 X).....	72
5.10 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo tratado con $\text{SO}_2\text{-NH}_3$ (150 X).....	73

1. INTRODUCCION

Durante las últimas décadas el alto índice de crecimiento demográfico en países como México ha llevado a establecer la prioridad en la producción de alimentos básicos, ésta política unida a problemas como la falta de un adecuado uso y manejo de los recursos agrícolas han limitado la producción de alimento para los animales, y contradictoriamente a éste problema, se presenta la necesidad de un mayor requerimiento de proteína de origen animal para consumo humano. Bajo éstas condiciones el sector pecuario se ve ante la necesidad de aumentar su producción modificando sus tradicionales sistemas de alimentación y explotación.

Una de las posibles alternativas de cambio en la alimentación animal deriva del empleo de los diferentes esquilmos agrícolas y de los subproductos agroindustriales como principales substitutos de los granos utilizados en la dieta animal, especialmente de los rumiantes, abriéndose así un amplio panorama en los recursos disponibles para la nutrición humana.

El volumen de producción anual de esquilmos agrícolas en México es de aproximadamente 34 millones de toneladas, que representan un importante recurso para la alimentación animal. Su uso en la dieta de los rumiantes data de hace muchos años, no obstante éste no ha sido muy eficiente porque los esquilmos son materiales de baja digestibilidad, bajo contenido de nitrógeno así como de otros nutrimentos y también de pobre gustosidad, por lo que es recomendable que sean sometidos a algún pretratamiento físico, químico o biológico que permita incrementar su calidad al ser incluidos en la dieta animal.

En nuestro país los pretratamientos físicos y químicos han sido los más aplicados a nivel de campo, ya que la infraestructura requerida para ello es fácilmente adaptable con el equipo e instalaciones con que cuenta un rancho de mediana capacidad.

La preocupación por mejorar el valor nutritivo de los esquilmos agrícolas por medio de los pretratamientos químicos inició con sorprendentes resultados a finales del siglo pasado derivándose a partir de entonces una serie de investigaciones conducentes a la optimización de éstos métodos; entre los tratamientos alcalinos se tiene el empleo del amoníaco anhidro (NH_3) como uno de los más ventajosos, por el incremento obtenido en el contenido de nitrógeno total sumado al mejoramiento en la digestibilidad del material tratado; más recientemente se han desarrollado los tratamientos oxidativos que permiten hidrolizar más eficientemente el complejo lignocelulósico responsable de la digestibilidad de éstos materiales. Una última alternativa que resulta bastante atractiva debido a su efectividad y economía consiste en la obtención de cenizas de madera para preparar las soluciones alcalinas utilizadas en el pretratamiento químico.

De ésta manera, considerando la disponibilidad de los esquilmos agrícolas y sustancias químicas, aunado a la efectividad y factibilidad del pretratamiento químico a nivel de campo se realizó la presente investigación dirigida hacia el mejoramiento en la digestibilidad del rastrojo de sorgo sometido al pretratamiento químico con una sustancia alcalina

comercial y/o una oxidativa, además como por una solución alcalina obtenida a partir de cenizas de del mismo residuo agrícola.

2. OBJETIVOS

- 2.1** Evaluar los cambios composicionales y nutricionales del rastrojo de sorgo tratado con amoníaco (NH_3) o con dióxido de azufre (SO_2) bajo condiciones normales.

- 2.2** Evaluar los cambios composicionales y nutricionales del rastrojo de sorgo debido a la combinación de un tratamiento alcalino (NH_3) con un tratamiento oxidativo (SO_2).

- 2.3** Evaluar los cambios composicionales y nutricionales del rastrojo de sorgo debido a su tratamiento con soluciones alcalinas de cenizas obtenidas de rastrojo de sorgo.

3. REVISION DE LITERATURA.

3.1. Tejidos vegetales.

Los tejidos son grupos de células que desempeñan una función en común, aquellas en las cuales las células son esencialmente iguales entre sí, se denominan simples, mientras que aquellas en que diferentes tipos de células contribuyen a una función, se denominan complejos. Los tejidos son clasificados de acuerdo a su estructura, origen o función, así las principales clases de tejidos encontrados en las plantas superiores más comunes y el tipo de células que los forman son los siguientes (Fahn, 1974; Kingsley, 1979; Cronquist, 1981):

3.1.1 Meristema.

3.1.2 Tejidos simples:

- a) Parénquima**
- b) Colénquima**
- c) Esclerénquima**
- d) Epidermis**
- e) Corcho**

3.1.3 Tejidos complejos:

- a) Xilema**
- b) Floema**

3.1.1 - Meristema.

El meristema es un tejido que se caracteriza por presentar una gran tasa de división celular. El tallo y cada una de sus ramas, así como la raíz llevan en la punta un grupo de células que forman el meristema apical. Aquellos tejidos derivados directamente por división del meristema apical se denominan tejidos primarios; y son los responsables del crecimiento en longitud, mientras que los derivados de los meristemas laterales se denominan tejidos secundarios, éstos permiten el crecimiento en diámetro y frecuentemente intervienen en la resistencia mecánica del tallo. (Cronquist, 1981; Seigel et. al.,1983).

Las características de las células meristemáticas varían en los diversos tipos de meristemas y en las distintas especies de plantas. De manera típica, los meristemas apicales están formados por células pequeñas, casi isodiamétricas y con paredes celulósicas delgadas. Las células del tejido secundario con frecuencia son más alargadas, y es común que tengan paredes celulares gruesas. (Cronquist,1981).

3.1.2- Tejidos simples.

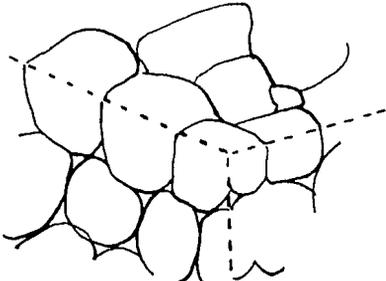
- a) Parénquima es el tejido formado por células relativamente no especializadas; las células de parénquima son las más abundantes de todos los tipos de células, encontrándose en casi todas las partes principales de las plantas superiores. La pared de las células de parénquima es delgada, sin capa secundaria y

está formada formada principalmente por celulosa y compuestos pécticos, éstas células tienden a poseer grandes vacuolas que pueden contener almidón, aceites y taninos. Las células de parénquima tienen varias formas (Figura 3.1) y con frecuencia son más o menos isodiamétricas; las células adyacentes por lo común están en contacto sólo en partes de su superficie, dejando espacios intercelulares de diferentes tamaños. Morfológica, fisiológica y filogenéticamente, el parénquima es el tejido básico o fundamental y los otros tipos pueden considerarse como modificaciones del mismo.

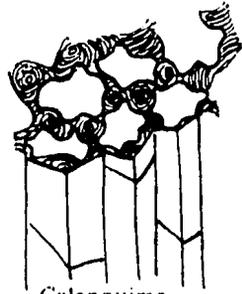
En la parte central de las hojas, las células de parénquima contienen numerosos cloroplastos, por lo que los botánicos se refieren a éste tejido como clorénquima, cuya función principal es la fotosíntesis; los tejidos de parénquima sin cloroplastos tienen como función el almacenamiento de nutrimentos o agua. (Kingsley, 1979; Cronquist, 1981).

- b) El colénquima es un tejido formado por células más o menos alargadas, con paredes primarias gruesas, constituidas en su mayor parte por celulosa, junto con compuestos pécticos. De manera típica las células son prismáticas alargadas que se estrechan hacia sus extremos (Figura 3.1). La principal función del colénquima es de refuerzo mecánico, por lo general es el primer tejido de soporte en los tallos y hojas jóvenes aunque también tiene importancia en estos órganos ya maduros (Cronquist, 1981).

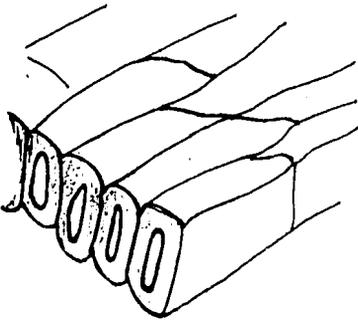
Figura 3.1 Algunos tipos de tejido mostrando solo las paredes celulares o la silueta de las células sin su contenido¹.



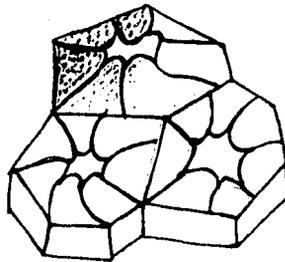
Parenquima



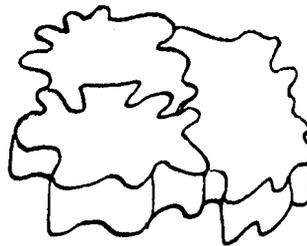
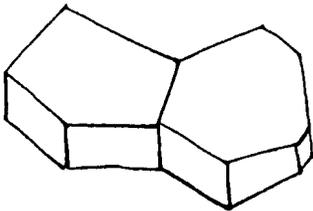
Colenquima



Fibras de esclerénquima



Células pétreas de esclerénquima



Células de epidermis

¹Cronquist, 1981.

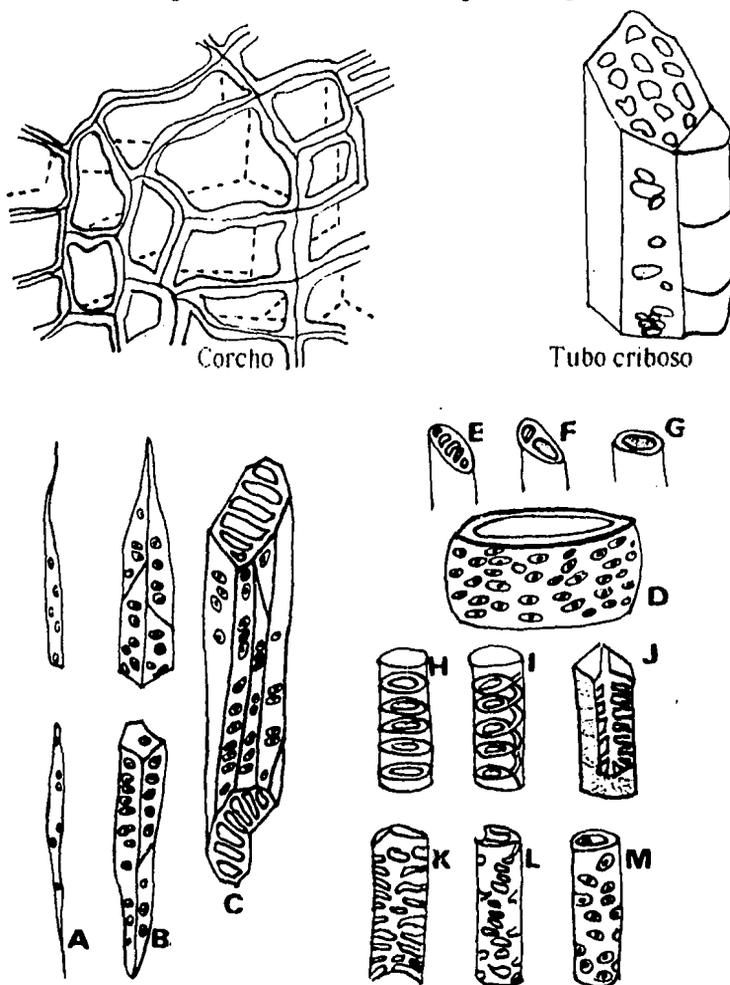
- c) El esclerénquima es el tejido formado por células de pared gruesa cuya única función es de refuerzo mecánico. Las células tienen una pared secundaria gruesa y dura bien definida que normalmente está impregnada de lignina. Las células de esclerénquima varían mucho en forma y tamaño (Figura 3.1). Los tejidos colenquimatosos o parenquimatosos algunas veces con el transcurso del tiempo se vuelven esclerenquimatosos; esto es, forman paredes secundarias y después tienden a perder su protoplasto. (Kingsley, 1979; Cronquist, 1981).
- d) La epidermis es el tejido externo característico de las hojas, tallos y raíces jóvenes. Está formada por células que se ajustan entre sí estrechamente casi sin espacios intercelulares (Figura 3.1) a excepción de un tipo especial de éstos llamados estomas. Las paredes de las células epidérmicas están constituidas en su mayor parte por celulosa y compuestos pécticos. La epidermis de las hojas y tallos es en gran parte, un tejido de protección que proporciona cierta resistencia mecánica e inhibe la evaporación del agua de los tejidos internos. (Kingsley, 1979; Cronquist, 1981).
- e) El corcho es un tejido impermeabilizante contra el agua. La pared secundaria está formada por suberina, una sustancia cerosa; la pared primaria constituida principalmente por celulosa, con la madurez tiende a impregnarse de suberina. Las células de corcho tienden a ser tetracaedraédricas (Figura

3.2). El corcho se puede considerar como un tejido secundario derivado de un tipo específico de meristema llamado felógeno o cambium de corcho. Este tejido por lo común, se presenta en la parte externa de los tallos y raíces leñosas, formando una cubierta protectora después de que se ha roto la epidermis. (Cronquist, 1981).

3.1.3 Tejidos complejos.

- a) El xilema es un tejido complejo que participa en la conducción de agua y minerales, así como en el sostén mecánico (Cronquist, 1981); y está formado por una combinación de células de parénquima, traqueidas, vasos, células rayo y fibras (Figura 3.2). El tipo fundamental de células del xilema es la traqueida, que son células largas, delgadas y ahusadas en los extremos, con paredes secundarias bien desarrolladas y lignificadas, y con un lumen (espacio encerrado por la pared de una célula, en especial si está muerta) bien desarrollado cuando maduran. Las traqueidas se dividen en varias categorías, de acuerdo con el dibujo que presenta la pared secundaria (Figura 3.2). (Fahn, 1974; Cronquist, 1981).

El xilema de los tallos y de las raíces, por lo general contiene algunas células vivientes, sin embargo en su etapa funcional, las traqueidas, los vasos y las fibras son células muertas. (Cronquist, 1981).

Figura 3.2 Células de tejidos vegetales.¹

Células de xilema

A, fibra; B, traqueida; C, D, segmentos de vaso; E-G, extremos de segmentos de vasos con aberturas progresivamente menos obstruida; H-M, tipos de engrosamiento secundario de las células de xilema; H, anular; I, espiralado; J, escalariforme; K, reticulado; L, reticulado-punteado; M, punteado.

¹Cronquist, 1981.

- b) El floema es un tejido complejo que funciona en la conducción de alimentos y otras sustancias disueltas, incluyendo minerales. El floema está asociado con el xilema, y ambos tejidos constituyen el sistema vascular de la planta. (Cronquist, 1981). Este tejido incluye el parénquima-floema y el elemento criboso (Figura 3.2), el cual forma los tubos cribosos y las células cribosas; además se pueden encontrar presentes las células acompañantes, las células rayo y las fibras. Los elementos cribosos son células largas y de pared delgada que en su madurez tienen citoplasma y una vacuola central, pero que carecen de núcleo, su pared celular primaria está formada por celulosa y no tienen pared celular secundaria. (Kingsley, 1979).

3.2 Anatomía vegetal.

El tallo. La naturaleza y disposición de los tejidos primarios de los tallos de las angiospermas difiere en los distintos grupos, pero en casi todos tienen ciertas características comunes. Están rodeados en el exterior por una epidermis seguida del tejido del mesófilo y contienen una red de filamentos longitudinales de tipo vascular llamados haces vasculares, éstos se encuentran en una matriz parenquimatosa que se conoce como tejido fundamental.

- a) Haz vascular. Cada haz vascular contiene tanto xilema como floema en el cual, el xilema comúnmente está situado hacia el centro del tallo y el floema hacia afuera del mismo. Los tallos

herbáceos de las monocotiledóneas (incluyen a las gramíneas como el maíz, arroz, avena, centeno y cebada) tienen numerosos haces vasculares pequeños dispuestos en uno más círculos o diseminados en el tejido fundamental, que por lo general es parenquimatoso y con frecuencia puede presentar una capa colenquimatosa no muy lejos de la epidermis. En el tejido fundamental que rodea el haz vascular no se diferencia una corteza ni una médula, sin embargo tanto la apariencia de éste tejido como su función (sostén y almacenamiento de alimento) son idénticas a las de las células de la corteza y la médula de una dicotiledónea (Fahn, 1974).

Mediante la combinación de técnicas histoquímicas con los microscopios compuestos y electrónicos se han determinado las interrelaciones entre los microorganismos del rumen y los tejidos del forraje durante la digestión (Akin et. al. 1977; Barton y Akin, 1977; Spencer y Akin, 1980; Harbers et. al. 1981; Harbers et. al. 1982).

El potencial de resolución y amplificación del microscopio de haz luminoso (LM), microscopio electrónico de transmisión (TEM) y microscopio electrónico de barrido (SEM) se muestran en el Cuadro 3.1. Así de acuerdo a las características de cada tipo de microscopio se tiene que el LM revela la distribución de los tejidos de la planta, la cantidad y el tipo de tejidos, el tamaño de la pared celular, y con tinciones especiales, los sitios y tipo de tejidos lignificados o no degradados. El SEM es

Cuadro 3.1 Comparación de los diferentes tipos de microscopios.¹

Tipo	Resolución (Å)	Amplificación
Microscopio de haz luminoso (LM)	2 000	hasta 2 000 X
Microscopio de transmisión electrónica (TEM)	10	hasta 200 000 X
Microscopio electrónico de barrido (SEM)	50 a 500	hasta 200 000 X

¹ Akin, 1979.

utilizado para el análisis de especímenes en los cuales se puede observar el grado de deformación de sus tejidos. El TEM proporciona información sobre la forma y asociación de los microorganismos ruminales con la pared celular de la planta durante su degradación (Akin, 1979).

En observaciones hechas con el SEM a diferentes pastos se ha encontrado el siguiente patrón general de digestión de los tejidos por parte de los microorganismos ruminales: mesófilo, floema > epidermis, parénquima > esclerenquima > tejido vascular lignificado (no degradable). Akin et. al. (1977), Akin (1979) y Harbers et. al (1981) identificaron el tejido lignificado en las células del xilema y en las del paquete envoltorio interno del gran paquete vascular.

En éste sentido, la disminución en la digestibilidad de los pastos asociada con su grado de madurez se ha explicado por un aumento de tejido lignificado en las áreas que comprenden las células del mesófilo y del parénquima, especialmente en los tallos (Akin et. al., 1977; Akin, 1979). En las hojas la mayoría de los tejidos no cambian conforme avanza la madurez, pero la cantidad de tejido envoltorio del paquete de parénquima se incrementa con el tiempo y como resultado hay un aumento en el tejido vascular total y disminución en el mesófilo (Akin et. al. 1977).

3.3 La pared celular vegetal.

De manera característica una célula vegetal está formada por un protoplasto, el cual encierra a una vacuola central, que contiene la savia celular, ésta a su vez se encuentra contenida por una pared celular. El principal papel de la pared celular es darle forma y cierto grado de rigidez a la célula, sin constituir una barrera significativa para la difusión de agua y de otros materiales en solución (Cronquist, 1981).

La pared celular puede estar constituida por una o dos capas:

- a) **Pared primaria**, que es la capa externa y se compone de un 90% de polisacáridos (principalmente celulosa, además de hemicelulosa y pectinas) y 10% de proteínas. De manera típica forma la estructura sobre o alrededor de la cual se depositan otras sustancias que forman parte de la pared celular.

- b) **Pared secundaria**, que es la capa interna más gruesa y se forma después de la externa envolviendo la pared primaria; ésta se produce después de que la planta alcanza su madurez, incrementándose la cantidad de celulosa, hemicelulosa y principalmente lignina para darle dureza y resistencia a la pared celular. La celulosa es el compuesto orgánico de origen natural más abundante en la superficie terrestre, existe a través del reino vegetal como el más abundante de los compuestos de la pared celular (20-25% en base seca), por lo

que se le considera como el esqueleto del mundo vegetal (Macarulla, 1983; Akin y Barton 1983).

Las fibras microscópicas de celulosa son agregados de un variable número de cadenas no ramificadas de glucosas $\beta,1-4$, alineadas paralelamente unas con otras, pudiendo existir de 300 a 15,000 unidades de glucosa por molécula de celulosa, y su peso molecular puede variar entre 50,000 a 2,500,000, ésto dependiendo de la especie y madurez de la planta (Macarulla, 1980; Lehninger, 1981).

Las cadenas están organizadas en grupos para formar delgados bastones o listones de celulosa llamados microfibrillas; éstas presentan una organización interna compleja, encontrándose densamente empaquetadas en la pared celular rodeando la célula en filas paralelas regulares frecuentemente en capas entrecruzadas (Bohinski, 1978; Cronquist, 1981; Lehninger, 1981).

La estructura química de la celulosa está bien apropiada para desarrollar su papel biológico como material estructural. La alineación de las cadenas unas sobre otras formando láminas es sostenida por puentes de hidrógeno, ya que cada residuo aporta tres grupos OH que pueden participar en él, lo que le confiere una gran fuerza a la fibra intacta y es también la base de su resistencia a la degradación química (Bohinski, 1978; Laguna y Piña 1979).

Mediante la difracción de rayos x se ha identificado una estructura cristalina y otra amorfa, la celulosa cristalina es difícil de atacar por solventes y enzimas o agentes químicos, en cambio la celulosa amorfa es fácilmente degradada. El grado de cristalinidad de la celulosa afecta su velocidad de descomposición por los microorganismos celulolíticos, de modo que a mayor grado de cristalinidad menor tasa de degradación microbiana (Han, 1978).

A pesar de que no se ha podido demostrar una unión química directa entre la celulosa y la lignina (Morrison, 1974), la utilización nutricional de la celulosa se ha asociado con su grado de lignificación, de modo que se habla de dos tipos de celulosa: una lignificada y protegida, y otra libre de los efectos de la lignina; éste concepto se ha utilizado para estudiar el comportamiento cinético de la celulosa en la tasa de digestión (Van Soest, 1982).

Las investigaciones de Waldo y Smith (1972) y Mertens (1977) sobre la digestión de la celulosa demostraron que existe una pequeña fracción de celulosa denominada como indigestible que aparece en heces y es removida a partir del rumen solamente por pasaje; también identificaron otra fracción que es potencialmente digestible que desaparece por digestión y pasaje, y la cuantificación de su tasa de digestión se puede realizar mediante una cinética de primer orden.

Gill citado por Waldo y Smith (1972) relacionó la digestibilidad de la materia seca consumida con la tasa de desaparición de la celulosa durante su digestibilidad *in vitro*. Además de la presencia de lignina, la digestibilidad de la celulosa se puede ver afectada por la cutinización, silicificación, contenido de hemicelulosa así como por otros elementos como el nitrógeno protéico y los minerales (Pigden y Bender, 1972; Bryant 1973; Leatherwood, 1973; Van Soest, 1982; Jung y Vogel, 1986).

La hemicelulosa es un polisacárido amorfo que puede incluir cadenas cortas de glucanos, polímeros de xilosa, arabinosa, ramnosa, galactosa ácidos urónicos como el ácido glucurónico y galacturónico. Su molécula puede constar de 150 a 200 unidades de azúcares. Existe evidencia de un enlace tipo éster entre los constituyentes fenólicos con xilosa-arabinosa, el cual contribuye al control de degradación de la hemicelulosa Van Soest, 1982; Chesson, 1983).

Debido a que existe una estrecha relación de la hemicelulosa con la celulosa y la lignina, la digestibilidad de la hemicelulosa se encuentra muy relacionada con la concentración de celulosa y su lignificación (Van Soest, 1982).

A medida que las células maduran son enriquecidas con glúcidos, algunos de los cuales son transformados a lignina a través de una serie de reacciones llamadas "proceso de lignificación" (Manitto, 1981). Cuando se produce la lignina, ésta impregna de modo sucesivo a la laminilla media (la cual mantiene unidas a las células adyacentes y no es considerada como

parte de la pared celular), a la pared primaria, y en forma especial a la pared secundaria, entonces se dice que la pared celular se ha lignificado. La lignificación aumenta la firmeza, dureza y resistencia de la pared celular vegetal (Cronquist, 1981; Manitto, 1981).

Aún cuando la lignina fue descubierta hace un siglo, muchos de sus aspectos estructurales y biogénéticos aún no están claros. Está formada en su totalidad por carbono, hidrógeno y oxígeno, pero a diferencia de la celulosa y de la hemicelulosa no tiene la naturaleza de un glúcido. Es un polímero de alto peso molecular formado por varios compuestos derivados del fenilpropano, unidos por una gran variedad de formas (enlaces carbono-carbono entre cadenas propilo o entre cadenas y anillos aromáticos, así como puentes de hidrógeno). Contiene un alto porcentaje de grupos metoxi, es fácilmente oxidable por el sistema peróxido de hidrógeno-peroxidasa, reacciona con nitritos, es soluble en álcali caliente y condensa fácilmente con fenoles y tioles debido a su estructura condensada con enlaces carbono-carbono y enlaces éster, la lignina no es susceptible a una simple hidrólisis, lo que hace difícil de analizar su estructura química (Han, 1978; Cronquist, 1981; Manitto, 1981; Jung y Fahey, 1983).

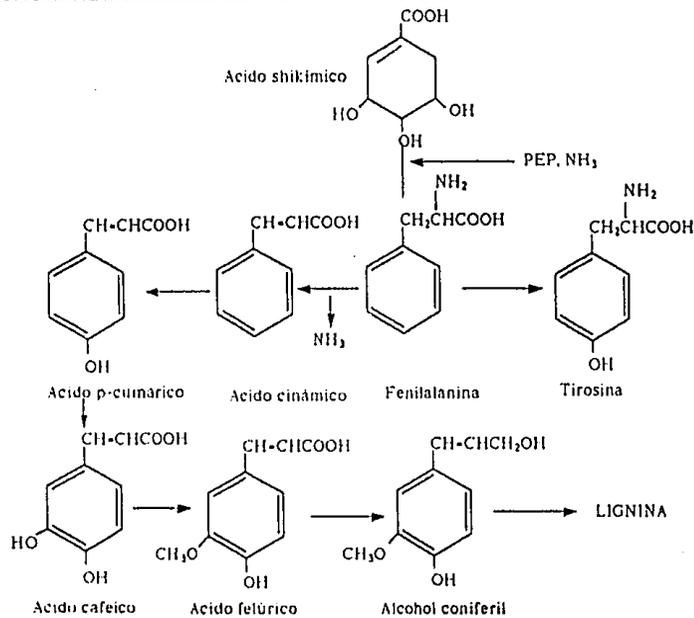
Los compuestos fenólicos son derivados a partir de dos rutas metabólicas presentes en todas las plantas vasculares, la ruta del ácido shikímico y la del acetato-malonato, que proporcionan precursores para todos los compuestos fenólicos, desde simples monómeros fenólicos hasta polímeros tales como la lignina y los taninos. La estrecha relación que existe entre la biosíntesis fenólica con el metabolismo normal de la planta se debe a la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina por la

ruta del ácido shikímico. El ácido cinámico obtenido a partir de la fenilalanina puede ser convertido en compuestos fenilpropanoides (C₆-C₃) (Cuadro 3.2); así los precursores fenilpropanoides, la fenilalanina y la tirosina dan lugar a los tres monómeros alcohólicos que forman parte de la molécula de lignina: p-cumaril, coniferil y sanapil. La falta de un control enzimático en la polimerización deshidrogenativa da como resultado una serie de enlaces al azar que contribuyen para darle a la lignina su estructura tan compleja (Manitto, 1981; Van Soest, 1982; Jung y Fahey, 1983).

A la matriz fenilpropanoide altamente condensada de la lignina se le ha llamado "alma" de la lignina, y parece estar unida a los glúcidos estructurales de la pared celular de la planta. Los ácidos p-cumárico y felúrico representan la fracción que no es el "alma" de la lignina y pueden actuar en el entrecruzamiento de enlaces entre la lignina y los glúcidos estructurales debido a los grupos funcionales hidroxilo y carbonilo. (Jung y Fahey, 1983; Burrit et. al. 1984). La lignina parece estar unida a la hemicelulosa a través de cadenas de xilanas y arabinoxilanas por medio de enlaces éster (Capper et. al., 1977; Jung y Fahey 1983; Burrit et. al. 1984; Jung y Vogel 1986).

Dado que la lignina es la fracción indigestible por los rumiantes, su íntima relación con los glúcidos estructurales presentes en la pared celular vegetal va a limitar la disponibilidad de éstos; al respecto se han sugerido varios mecanismos por medio de los cuales se explica cómo la lignina puede afectar la digestibilidad de la pared celular, estos incluyen: (a) incrustación de la lignina sobre los glúcidos estructurales y (b) efectos en el tracto

Cuadro 3.2. Biosíntesis de los monómeros fenólicos y de la lignina



Jung y Fahey, 1983.

digestivo, debido a la acción antiséptica de los grupos fenólicos de la lignina, impidiendo el ataque microbiano (Jung y Fahey, 1983).

Parece ser que el principal papel de la lignina y probablemente de los óxidos de silicio sea limitar el potencial de extensión de la digestión de la dieta, en cambio, la tasa de digestión no está aparentemente relacionada con las entidades químicas presentes, pero sí puede estar relacionada a la morfología, grado cristalino o naturaleza física, y también pueden involucrarse los factores que inhiben o estimulan el crecimiento microbiano y el sistema enzimático degradativo de la fibra (Mertens, 1977).

3.4 Principales esquilmos agrícolas.

Los esquilmos agrícolas son definidos como el material vegetal que permanece en el campo después de la cosecha, y se estima que los cereales producen cuando menos igual cantidad de grano y de esquilmo agrícola (Cajal, 1985). Del cultivo de los cereales y las leguminosas, quedan pajas, rastrojos, tazoles y cascarillas que constituyen una fuente potencial de alimento para el ganado.

La disponibilidad nacional de los principales esquilmos agrícolas se muestra en el Cuadro 3.3, observándose que los rastrojos de maíz, sorgo y trigo son los más importantes en cuanto a volumen producido; sin embargo a pesar de esto su aprovechamiento es muy ineficiente, calculándose (Flores, 1980) que aproximadamente el 88.3% de la producción es incorporada al terreno o quemado, y el resto es utilizado en la alimentación animal.

Cuadro 3.3 Disponibilidad nacional estimada de esquilmos agrícolas.¹

Cultivo	Producción (grano) Ton x 10 ³	Rendimiento paja:grano	Producción (esquilmo) Ton x 10 ³
Maíz	13 061	1.6:1	20 898
Sorgo	4 846	1:1	4 846
Trigo	3 460	1.4:1	4 844
Frijol	1 282	0.9:1	1 154
Arroz	1 999	1:1	1 999
Cebada	557	1:1	557

¹ Anuario Estadístico de los Estados Unidos Mexicanos, 1986.

En el Cuadro 3.4 se ilustran algunas otras aplicaciones de los residuos agrícolas.

En los últimos años una considerable atención se ha dirigido hacia el desarrollo de alimentos para consumo animal a partir de los esquilmos agrícolas, ya que se consideran como un buen recurso en las épocas en que se sufre una clara escasez de forraje, teniendo especial valor en el caso de los rumiantes.

3.5 Valor nutritivo de los esquilmos agrícolas.

Generalmente la cosecha de los cereales ocurre cuando la planta ha alcanzado su madurez por lo desde el punto de vista nutricional se considera a los esquilmos agrícolas como alimentos voluminosos de bajo contenido de energía (1.9 a 2.3 Kcal ED/Kg m.s.), bajo contenido de proteína cruda (4.5 a 6%), altos contenidos de fibra detergente neutro(>60%) y fibra detergente ácido (>40%); su contenido de lignina varía entre 4 y 7.5%, (pudiendo llegar hasta un 16% en el caso de leguminosas), y el de óxidos de silicio entre 7 y 10.5%; por lo tanto su consumo y digestibilidad son bajos, limitándose así el uso de muchos materiales lignocelulósicos como alimento animal (Jackson, 1977; Han, 1978; Flores, 1980; Santacruz et. al. 1982; Kerley et. al. 1987).

Más de la mitad de la materia seca de los rastrojos consiste de celulosa y hemicelulosa, el resto lo comprenden la lignina, compuestos nitrogenados y cenizas (principalmente óxidos de silicio). La estrecha asociación física y química entre éstos compuestos da origen al complejo lignocelulósico, el cual va a definir el grado de aprovechamiento de éstos

Cuadro 3.4 Usos de los esquimos agrícolas.¹

Método	Productos
Uso directo	Combustible, fertilizante, acondicionador del suelo, alimento animal, empaque de materiales, cama para ganado y artesanías.
Conversión mecánica	Alimento animal (pellets).
Conversión química	Azúcar, alcohol, furfural, xilitol, derivados de celulosa, compuestos fenólicos, lignina, resinas, ésteres y plásticos.
Conversión biológica	Ensilaje, composta, azúcar, alcohol, proteína unicelular, enzimas y metano.

¹ Adaptado de Han, 1978.

materiales, ya que la fracción de lignina, fenilpropanoides asociados a la estructura de lignina, óxidos de silicio y en algunos casos también la presencia de taninos y cutina, constituyen la parte esencialmente indigestible del material. Respecto a la fracción de celulosa, como ya se había mencionado, no toda es potencialmente digestible de acuerdo con el modelo de digestión observado por Waldo y Smith (1972); de modo que la tasa de rompimiento de las paredes celulares de las plantas y la extensión a la cual son degradadas estará determinada más por la naturaleza de las paredes que por las propiedades fisicoquímicas de sus polímeros componentes.. Debido a esto la digestibilidad de los rastrojos generalmente está inversamente relacionada con la cantidad de lignina presente (Han, 1978; Jung y Fahey, 1983; Jung y Vogel, 1986; Reeve, 1987.)

En el Cuadro 3.5 se presenta la composición química de varios esquilmos agrícolas. El rastrojo de maíz generalmente tiene mayor contenido de proteína que las pajas y su digestibilidad *in vitro* es relativamente alta. El rastrojo de sorgo es similar al de maíz, sin embargo posee características especiales, pues en algunas regiones de nuestro país muestra tendencias perennes debido al desarrollo de brotes axilares a lo largo de su tallo principal; después de la cosecha del grano, la planta permanece relativamente suculenta debido a que el tejido continúa con actividad fotosintética, acumulando reservas de glúcidos solubles y proteínas, reduciendo la relación de paredes celulares a contenido celular, incrementado por lo tanto su valor nutritivo. En algunas regiones se aprovechan las lluvias para promover un nuevo crecimiento de las plantas (resoca de sorgo) utilizándolo para alimentar rumiantes ya sea pastoreado o empacado. En regiones con inviernos fríos se ha observado que las

Cuadro 3.5 Composición química de varios esquilmos agrícolas (% en base seca).¹

Esquilmo	Proteína cruda	Paredes celulares	Celulosa	Hemice- lulosa	Lignina	Sílice	Digestibilidad
Maíz	6.9	68.10	31.3	25.5	7.9	13.2	49.3
Sorgo	5.6	83.70	31.4	26.4	5.5	3.0	43.0
Trigo	4.3	-	39.9	24.1	7.7	6.0	40.0
Arroz	5.0	-	37.0	17.4	4.4	14.2	46.4
Algodón	11.9	-	30.2	-	12.6	-	25.3

¹ Cajal, 1985.

(-) No determinado

temperaturas bajas ejercen un efecto detrimental sobre la calidad de la planta (Cajal, 1985).

3.6 Tratamientos químicos.

Entre las diferentes alternativas que existen para mejorar el valor nutritivo de los esquilmos agrícolas se han probado diferentes compuestos químicos, tales como:

a) **Compuestos alcalinos.**

Estos incluyen los hidróxidos de sodio (NaOH), potasio (KOH), calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), y amonio (NH_4OH), o bien amoníaco anhidro (NH_3) (Waiss y Guggolz 1972; Rounds y Klopfenstein 1974) Klopfenstein, 1978; Sundstol, 1984).

El modo de acción de los álcalis ocasiona la hidrólisis parcial de las paredes celulares, en forma general éstos tratamientos aumentan el potencial de digestión de la celulosa y hemicelulosa, debido a la solubilización de la hemicelulosa, al aumento en la extensión de digestión de la celulosa y hemicelulosa y al incremento de la tasa de digestión de la celulosa y hemicelulosa posiblemente por hinchamiento. El contenido de lignina generalmente no es reducido por éstos tratamientos químicos, de modo que el aumento en la extensión de la digestión probablemente es debido al rompimiento de

enlaces éster entre la lignina y la hemicelulosa sin remoción de la lignina (Klopfenstein, 1978).

Trabajos recientes (Gould, 1984; Kerley et. al. 1985) indican que el tratamiento de materiales lignocelulósicos con soluciones alcalinas de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) aumentan significativamente la susceptibilidad de los glúcidos estructurales al ataque microbiano en el tracto digestivo de los rumiantes, debido aparentemente a una deslignificación parcial de la pared celular y a una descristalización de las microfibrillas de celulosa; sin embargo existe el inconveniente de éste tratamiento en la pérdida de hasta un 50% de hemicelulosa debido a que el pH de la reacción aumenta hasta 12. Kerley et. al. (1987) encontraron que el tratamiento de rastrojo de trigo con soluciones alcalinas de H_2O_2 a un pH controlado de 11.5 utilizando NaOH previene la solubilización de la hemicelulosa de la pared celular permitiendo un mejoramiento en la retención de la materia seca en el animal.

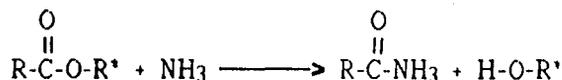
Nolte et. al. (1987), basándose en la alcalinidad obtenida a partir de soluciones preparadas con cenizas de madera de roble, trató rastrojo de trigo obteniendo un mejoramiento en la DIVMO semejante al obtenido haciendo el tratamiento de éste con NaOH; abriéndose así la posibilidad de uso de una fuente económica de obtención de material alcalino para el tratamiento de esquilmos agrícolas.

b) Agentes oxidantes.

Tales como el dióxido de azufre (SO₂), peróxido de hidrógeno (H₂O₂), ozono (O₃), clorito de sodio (NaClO₂) o bien clorito (ClO₂) como tal, y dióxido de nitrógeno (NO₂) (Ben-Ghedalia et. al. 1980; Ben-Ghedalia y Miron 1981 y 1984; Shefet y Ben-Ghedalia 1982; Bunting et. al. 1984; Kerley et. al. 1987).

Entre los compuestos alcalinos investigados el NaOH, NH₄OH y NH₃ han sido los más populares; sin embargo el uso del NaOH ha venido declinando debido al elevado costo de éste, a las grandes cantidades de agua empleada (ya sea para el tratamiento y/o para el consumo animal), deja residuos minerales que pueden ser detrimentales a la fisiología digestiva animal y al suelo; además de ser considerado como un compuesto de manejo difícil debido a su corrosividad.

En cambio el empleo del NH₄OH o del NH₃ a tomado un gran auge ya que además de su efecto hidrolizante sobre las paredes celulares, aporta nitrógeno al alimento. La reacción de amonólisis que se plantea se efectúa, puede sintetizarse como sigue:



donde:

R - hidrato de carbono soluble (celulosa o hemicelulosa)

R' - hidrato de carbono, átomo de hidrógeno, ácido carboxílico o una unidad fenil propano (lignina)

Se ha sugerido que el NH_3 saponifica los enlaces éster que unen a la lignina y la hemicelulosa de la pared celular, provocando hinchazón y por lo tanto aumento en la flexibilidad de la fibra; hay un aumento en la superficie de contacto de la celulosa y hemicelulosa debido a que el álcali reduce la tensión intermolecular de los puentes de hidrógeno que unen las moléculas de celulosa provocando su hinchazón, permitiendo así un mayor ataque de las enzimas celulolíticas. (Capper et. al. 1977; Jackson, 1977; Saaenger, 1982).

Respecto al efecto de la amoniatización sobre la composición lignocelulósica de los esquilmos agrícolas existe una gran divergencia de resultados, debido a que no todas las pajas y rastrojos responden de manera uniforme al tratamiento químico, se ha observado que los rastrojos de cereales responden mejor al tratamiento con amoníaco que los esquilmos de leguminosas, debido a que los primeros tienen un contenido menor de lignina y se logra una buena solubilización de la hemicelulosa (Santacruz et. al. 1982). Por otro lado, la respuesta obtenida para un mismo esquilmo puede variar dependiendo de las condiciones del tratamiento (contenido de humedad, tamaño de partícula, dosis de amoníaco, así como por

la temperatura, presión y tiempo de reacción, o bien la combinación de amoníaco con otros agentes químicos) (Waiss y Guggolz, 1972; Sundstol et. al. 1978; Lawlor y O'shea, 1979; Borhami y Sundstol, 1982; Streeter y Horn, 1982; Cloete y Kritzinger, 1984; Fahmy y Ørskov, 1984; Leshem et. al. 1984; Sundstol, 1984)

En los Cuadros 3.6 y 3.7. se muestra un resumen de los resultados del efecto producido sobre la composición y degradación lignocelulósica de pajas tratadas con amoníaco. Llamas et. al. (1982) así como Dryden y Kempton (1984) reportan que el tratamiento con amoníaco aumenta la digestibilidad de las pajas y rastrojos debido principalmente a un aumento en la extensión de la digestión de sus fracciones fibrosas.

Entre los agentes oxidantes se encuentra el SO_2 que es un gas incoloro que condensa a 10 C y una atmósfera de presión; su facilidad de licuación refleja el hecho de que su molécula es polar en virtud de tener un arreglo no lineal de sus átomos. Es especialmente tóxico para los organismos inferiores como los hongos, por ésta razón se utiliza para esterilizar productos cárnicos y de frutas, así como toneles de vinos (Lück, 1981; Sienko y Plane, 1986).

El SO_2 se caracteriza por su capacidad deslignificante, en forma gaseosa ha sido utilizado bajo severas condiciones de

**Cuadro 3.6 Efecto de la amoniatización de diferentes pajas sobre el
el decremento en su composición lignocelulósica.¹**

Parámetro	Intervalo (%)
Fibra detergente neutro	3.2 - 17.2
Fibra detergente ácido	16.2
Hemicelulosa	14.7 - 44.6
Celulosa	14.0
Lignina	12.8 - 56.9

¹ Adaptado de Aguilera, 1988.

Cuadro 3.7 Efecto de la amoniatización de diferentes pajas sobre el incremento en la degradación de la lignocelulosa.¹

Digestibilidad	Intervalo (%)
Materia seca	5.0 - 43.0
Fibra detergente neutro	12.0 - 20.2
Fibra detergente ácido	12.0 - 44.8
Hemicelulosa	15.6 - 60.0
Celulosa	32.2 - 63.4

¹ Adaptado de Aguilera, 1988.

temperatura y presión para romper el complejo lignina-celulosa del aserrín; con base en esto Ben-Ghedalia y Miron (1981) utilizaron el SO₂ para tratar rastrojo de trigo a un nivel del 5% a 70 C durante 72 horas, encontrando que hay una solubilización total de la hemicelulosa y una reducción en el contenido de lignina, obteniendo un incremento en la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO) de un 40 a 80%; la digestibilidad *in vitro* de los monosacáridos alcanzó 90% (Miron y Ben-Ghedalia, 1982).

Por lo anterior, el mecanismo de acción del SO₂ sugiere la solubilización de la hemicelulosa creando probablemente grandes espacios dentro de la matriz celulolítica, permitiendo así el acceso de las enzimas celulolíticas a la pared celular (Ben-Ghedalia y Miron, 1981; Shefet y Ben-Ghedalia, 1982).

Información definitiva sobre las características ultraestructurales que influyen en la degradación de los tejidos vegetales por los microorganismos del rumen es requerida para poder tratar de entender la digestión de los forrajes; información que podría ser utilizada en el mejoramiento de su valor nutritivo.

Por lo anterior los resultados del efecto de los tratamientos químicos y la degradación a nivel ruminal de las pajas y pastos se ha venido apoyando últimamente en observaciones hechas a los cambios ocurridos en la estructura de la pared

celular con ayuda del SEM; se ha encontrado que los álcalis generalmente producen cambios en la estructura del mesófilo, del parénquima y parte del tejido vascular (floema), en cambio el tejido del esclerénquima, parte del tejido vascular y los compuestos de silicio de la cutícula de la epidermis no son modificados. (Spencer y Akin, 1980; Harbers et. al. 1982).

4. MATERIAL Y METODOS

Este trabajo forma parte del proyecto de investigación titulado "Mejoramiento en la digestibilidad de esquilmos agrícolas para la alimentación de rumiantes", el cual ha sido parcialmente financiado por el CONACyT y por el Fondo de Estudios e Investigaciones Ricardo J. Zevada.

La realización experimental y el análisis químico de éste trabajo se efectuó en las instalaciones del CENID-Fisiología ubicado en Ajuchitlán, Qro. Las observaciones de microscopía electrónica se realizaron en el laboratorio de Microscopía Electrónica de la Facultad de Estudios Superiores-Cuautitlán-U.N.A.M.

Para cumplir los objetivos mencionados, el plan de trabajo consistió en:

1. Experimento 1.

"Efecto del pretratamiento con NH_3 ó con SO_2 sobre el valor nutritivo del rastrojo de sorgo".

Para evaluar y comparar el efecto del NH_3 ó del SO_2 en en rastrojo de sorgo bajo condiciones ambientales se utilizó un diseño completamente al azar, siendo los tratamientos utilizados: control, N (tratado con NH_3) y S (tratado con SO_2). Estos dos últimos tratamientos se manejaron a un sólo nivel (5% en base seca) por triplicado. El amoníaco se aplicó como NH_4OH .

previo ajuste del contenido de nitrógeno para obtener las mismas condiciones que si se trabajara con NH_3 . El SO_2 aplicado se encontraba en forma líquida contenido en unas ampollitas de vidrio, y al entrar en contacto con el rastrojo bajo condiciones ambientales se gasificaba.

El control o testigo se hizo para cada tratamiento por triplicado bajo las mismas condiciones que el material tratado, con la diferencia de que no se le aplicó ninguna sustancia química.

El tamaño de la muestra fué de 2 kg de rastrojo de sorgo picado, contenido en bolsas de plástico de 0.2 mm de grosor. El tiempo de reacción entre el NH_3 y el rastrojo, ó el SO_2 y el rastrojo fué de 21 días bajo condiciones ambientales (temperatura promedio 25 C). Transcurrido éste tiempo las bolsas se abrieron, se aerearon durante 7 días y se tomó una muestra de cada bolsa, la cual se molió en un molino de laboratorio tipo Wiley # 4 con una criba de 1 mm.

Las variables de respuesta que se evaluaron (por duplicado) fueron: materia seca (MS) y cenizas (Ce) (A.O.A.C., 1980); nitrógeno total (NT) (Kjeldahl, A.O.A.C., 1980); nitrógeno no protéico (NNP) (Jacobs, 1965 citado por Tejada, 1983); nitrógeno protéico (NP) (se calculó por diferencia de NT - NNP); nitrógeno de fibra detergente ácido (N-FDA), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), lignina (L) y celulosa (Goering y Van Soest, 1975, citado por Tejada, 1983); digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) (modificado de Minson y Mc Leod, 1972, citado por Tejada, 1983), ésta se evaluó por triplicado; y por último se hizo el análisis de microscopía electrónica.

La modificación que se hizo a la técnica de DIVMS de Minson y McLeod fué la siguiente: después de incubar los tubos que contenían la muestra con el amortiguador-inóculo durante 48 horas a 39 C con agitación, a cada tubo se le agregaron 1 ml de HCl 6N y 0.2 g de pepsina 1:10 000 (NFX1). Los tubos se incubaron de nuevo con agitación durante 48 horas a 39 C; después de éste tiempo se filtró el contenido de cada tubo en papel Whatman # 41, se secaron durante 24 horas a 50 C y se pesaron.

Para el análisis de microscopía electrónica se hizo lo siguiente:

a) Preparación de la muestra.

Se fracturó una porción de tallo del rastrojo de sorgo en forma tanto transversal como longitudinal, y se colocó en un portamuestras para microscopio electrónico de barrido, pegándola con tintura de plata, posteriormente todas las muestras ya montadas se introdujeron a un recubridor iónico de capa fina JFC-1100 para cubrir las muestras con una capa de oro de 1 500 nm de espesor, las condiciones de trabajo del recubridor iónico fueron de 1 200 voltios, 5 mA, 0.15 torr durante 3 minutos.

b) Observación de las muestras.

Cada una de las muestras se fué observando en un microscopio electrónico de barrido JEOL JMS-25 S-II utilizando una aceleración de voltaje entre 12.5 y 15 Kv, con aumentos en la imagen que variaron entre

45 y 1 000 μ . Las fotografías se tomaron con película de 35 mm plus X-PAN, y para su impresión se utilizó papel Kodak 2 bromide.

El modelo estadístico bajo el cual se analizaron los resultados obtenidos fué:

$$Y_{i(j)} = \mu + T_i + e_{i(j)}$$

donde:

$Y_{i(j)}$ es la variable de respuesta analizada (Ce, NT, N-NH₃, N-FDA, NNP, NP, FDN, FDA, L, C ó DIVMS).

μ es la media poblacional.

T_i es el i-ésimo efecto del tratamiento con NH₃ ó con SO₂ ó control.

$e_{i(j)}$ es el error experimental NID.

Se utilizó un análisis de varianza de un camino de clasificación con una P - 0.01; para la prueba de comparación de medias se utilizó el método SNK (Anderson y Mc Lean, 1974).

2. Experimento 2.

"Efecto del pretratamiento combinado de amoniaco y dióxido de azufre sobre el valor nutritivo del rastrojo de sorgo".

Para evaluar el efecto de la combinación de los tratamientos alcalinos y oxidativos sobre el rastrojo de sorgo se utilizó un diseño

completamente al azar con los siguientes tratamientos: control, NS (tratado con amoniaco y dióxido de azufre), SN (tratado con dióxido de azufre y amoniaco). Los dos últimos tratamientos se manejaron a un nivel del 5% en base seca en cada aplicación por triplicado, así para el factor NS se hizo el tratamiento con amoniaco durante un periodo de 21 días, transcurrido éste tiempo se aéreo el material y se hizo el tratamiento con dióxido de azufre durante 21 días, todo a temperatura ambiente (promedio de 25 C). El procedimiento inverso se siguió para el tratamiento SN.

El control se hizo para cada tratamiento por triplicado, bajo las mismas condiciones que el material tratado con la diferencia de que no se le aplicó ninguna sustancia química.

El tamaño de la muestra fué de 2 kg de rastrojo de sorgo picado, contenido en bolsas de plástico de 0.2 mm de grosor. Terminado cada tratamiento combinado se abrieron las bolsas y aerearon a temperatura ambiente durante 7 días, para después tomar una muestra de cada bolsa, la cual se molió en un molino de laboratorio tipo Wiley # 4 con una criba de 1 mm.

Las variables de respuesta que se evaluaron fueron las mismas que para el experimento I.

El modelo estadístico bajo el cual se analizaron los resultados obtenidos fué:

$$Y_{i(j)} = \mu + T_i + e_{i(j)}$$

donde:

$Y_{i(j)}$ es la variable de respuesta analizada (Ce, NT, N-NH₃, N-FDA, NNP, NP, FDN, FDA, L, C ó DIVMS).

μ es la media poblacional.

T_i es el efecto del i -ésimo tratamiento combinado NS ó SN ó control.

$e_{i(j)}$ es el error experimental NID.

Se utilizó un análisis de varianza de un camino de clasificación con una $P = 0.01$; para la prueba de comparación de medias se utilizó el método SNK (Anderson y Mc. Lean, 1974).

3. Experimento 3.

"Efecto del pretratamiento con soluciones alcalinas de cenizas obtenidas de rastrojo de sorgo sobre la composición y valor nutritivo del rastrojo de sorgo".

Para evaluar el mejoramiento en la digestibilidad del rastrojo de sorgo por su tratamiento con soluciones alcalinas de cenizas obtenidas de rastrojo de sorgo, se utilizó un diseño aleatorio con un arreglo factorial 3×3 , en el cual los tratamientos utilizados fueron: control, C (concentración de la solución de cenizas de rastrojo de sorgo) y T (tiempo de remojo del rastrojo de sorgo en la solución alcalina de cenizas de rastrojo de sorgo).

Las cenizas se obtuvieron por incineración del rastrojo de sorgo. El tamaño de la muestra fué de 10 g de rastrojo de sorgo molido (1 mm) contenido en bolsas de nylon monyl 10 HD. Los tratamientos se manejaron por triplicado, los niveles del tratamiento C fueron: 0, 5 y 10% de cenizas (peso/volumen), se homogenizó la solución y se dejaron a asentar las cenizas para aplicar el pretratamiento por inmersión de las bolsas de nylon que contenían el rastrojo de sorgo. Los niveles del tratamiento T fueron 0, 6 y 12 horas de remojo. Terminado cada tratamiento, las muestras contenidas en las bolsas se secaron durante 24 horas a 50 C.

Las variables de respuesta que se evaluaron por triplicado fueron: pH de la solución de cenizas antes y después del tratamiento, materia seca (MS), cenizas (Ce), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), lignina (L), celulosa (C) y digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) utilizando las mismas técnicas que en el experimento 1.

El modelo estadístico bajo el cual se analizaron los resultados obtenidos fué:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + T_j + CT_{ij} + e_{ijk}$$

donde:

Y_{ijk} es la variable de respuesta analizada (MS, Ce, FDN, FDA, L, C, ó DIVMS).

μ es la media poblacional.

- C_i es el efecto de la i -ésima concentración de la solución alcalina de cenizas de rastrojo de sorgo sobre el rastrojo de sorgo.
- T_j es el efecto del j -ésimo tiempo de remojo del rastrojo de sorgo en la solución alcalina de cenizas de rastrojo de sorgo.
- CT_{ij} es el efecto de la combinación de la i -ésima concentración de la solución de cenizas de rastrojo de sorgo y del j -ésimo tiempo de remojo del rastrojo de sorgo en la solución alcalina de cenizas de rastrojo de sorgo.
- $e_{ij(k)}$ es el error experimental NID.

Se utilizó un análisis de varianza de 2 caminos de clasificación con una $P = 0.05$. Para el análisis de comparación de medias se utilizó la prueba SNK (Anderson y Mc Lean, 1974).

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 Experimento 1

En el Cuadro 5.1 se presentan los valores medios de las fracciones de nitrógeno y contenido de cenizas en el rastrojo de sorgo tratado con NH_3 ó con SO_2 y el control, dónde se puede apreciar que la máxima respuesta de incremento en las fracciones de nitrógeno corresponde al tratamiento con NH_3 , así el contenido de NT aumentó un 189% con respecto al control (1.97 *vs* 0.68), comparado con tan sólo un 17% de incremento de NT después del tratamiento con SO_2 (0.80 *vs* 0.68).

El aumento en el contenido de NT del rastrojo de sorgo tratado con NH_3 (189%) se encuentra dentro de los valores promedio descritos por la literatura, los cuales pueden variar desde un 46% de incremento (Alibez et. al., 1984) hasta un 333% (Dryden y Kempton, 1983). Este mejoramiento en el contenido de NT se explica por la incorporación del NH_3 al rastrojo debido a la reacción de amonólisis efectuada entre los hidratos de carbono y el álcali (Saaenger, 1982), éste fenómeno se ve reflejado por el incremento registrado en la fijación (105%) de N-NH_3 (0.68 *vs* 1.40), éste valor se puede considerar elevado comparado con los informados en la literatura, los cuales pueden ir desde un 35% (Abidin y Kempton, 1981) a un valor promedio del 50% (Waiss y Guggolz, 1972; Waagepetersen y Thomson, 1977; Solaiman et. al., 1979; Dryden y Kempton, 1983); ésta variación en el mejoramiento del contenido de N-NH_3 y como consecuencia en el contenido de NT se explica por razones ya sea inherentes al tipo de rastrojo y a su composición química, o bien a las condiciones del tratamiento.

Cuadro 5.1 Medias ponderadas (\pm desviación estandar) de las fracciones de nitrógeno y contenido de cenizas en el rastrojo de sorgo tratado con NH_3 ó con SO_2 . (experimento 1).

Tratamiento	Variable de respuesta					
	NT	N- NH_3	NFDA	NNP	NP	Ce
Testigo	0.68 \pm 0.05 ^c	0.07 \pm 0.05 ^b	0.34 \pm 0.05 ^c	0.22 \pm 0.05 ^b	0.46 \pm 0.05 ^b	9.80 \pm 0.25 ^b
N	1.97 \pm 0.05 ^a	1.40 \pm 0.02 ^a	0.48 \pm 0.01 ^a	1.39 \pm 0.02 ^a	0.58 \pm 0.06 ^a	11.40 \pm 0.09 ^a
S	0.80 \pm 0.07 ^b	0.37 \pm 0.01 ^c	0.38 \pm 0.01 ^b	0.23 \pm 0.01 ^b	0.59 \pm 0.07 ^a	11.09 \pm 0.91 ^a

(a, b, c) Para cada parámetro valores con la misma letra son estadísticamente iguales. ($P \leq 0.01$)

N Tratamiento con NH_3 (5% b.s.)
 S Tratamiento con SO_2 (5% b.s.)
 NT Nitrógeno total
 N- NH_3 Nitrógeno amoniacal
 N-FDA Nitrógeno en fibra detergente ácido
 NNP Nitrógeno no protéico
 NP Nitrógeno protéico
 Ce Cenizas

El incremento obtenido en el contenido de NT del rastrojo tratado con SO_2 se puede atribuir al aumento obtenido en el N- NH_3 debido posiblemente a la liberación de algunos compuestos tales como amidas ó aminas; o bién a nitrógeno que puede haber provenído de moléculas de lignina, si se considera que el SO_2 puede atacar los enlaces covalentes del interior de la molécula de lignina (Dryden y Leng, 1988); éste hecho se vió reflejado en el incremento del NNP que sin embargo no fué significativo, y en el aumento del N-FDA en forma del complejo lignina-nitrógeno. El N-FDA se vió incrementado en un 41% (0.48 ν s 0.34) y 11% (0.38 ν s 0.34) con respecto al control después de los tratamientos con NH_3 ó con SO_2 , respectivamente.

La incorporación del N- NH_3 al rastrojo tratado con NH_3 incrementó el contenido de N-FDA como lo han descrito Solaiman et. al., 1979 y Brown et. al., 1987. A éste respecto Muller y Bergener (1975) mencionan la fijación de N- NH_3 en rastrojos amoniados en forma de un complejo denominado lignina-N- NH_3 ; asimismo Dryden y Kempton (1983) observaron la fijación del N- NH_3 a la pared celular presumiblemente unido a la lignina como una amina aromática no identificada en rastrojo de cebada tratado con NH_3 .

Como la FDA está definida como el residuo que contiene la lignina, la celulosa y los silicatos de la planta (Van Soest y Robertson, 1985) el nitrógeno unido a ésta fracción se puede considerar completamente indigestible precisamente por su estrecha asociación con la lignina que lo hace indisponible prácticamente.

El contenido de NNP se vió aumentado (531%) con respecto al control debido al tratamiento con NH_3 (1.39 ν :0.22), el tratamiento con SO_2 no tuvo efecto significativo ($P \leq 0.01$) sobre ésta fracción a pesar del ligero incremento registrado en el contenido de N-NH_3 y tampoco tuvo efecto sobre la FDN y la DIVMS ($P \leq 0.01$).

Puesto que en la fracción de nitrógeno correspondiente al NNP se agrupan todos los compuestos que tengan nitrógeno que no este presente en forma de un polipéptido de una proteína precipitable (Jacobs, 1965; Church y Pond, 1982), el aumento registrado en el contenido de NNP del rastrojo tratado con NH_3 se puede atribuir principalmente a la incorporación del N-NH_3 al materia, como se mencionó anteriormente.

Se ha demostrado que los álcalis pueden producir la isomerización de los monosacáridos formando enoles que se rompen en los puntos de las dobles ligaduras produciendo diferentes compuestos como las aldosas que a su vez pueden enolizarse y formar nuevos compuestos como son diacetilo, acetol, acetoina y algunos ácidos como el láctico, propiónico y pirúvico (Badui, 1981); de modo que el aumento en el contenido de nitrógeno después del tratamiento con NH_3 también se debe a la incorporación del álcali a los grupos acetilo que fueron separados por el tratamiento, formando acetato de amonio que se adiciona al NNP orgánico; sin descartar además la posible liberación de algunos compuestos tales como las aminas y sales en forma de cloruro o sulfato de amonio que también pueden quedar incluidos en ésta fracción de nitrógeno.

El NH_3 y el SO_2 responden igualmente ($P < 0.01$) sobre el NP con un 26% de aumento (0.58 vs 0.46) y el contenido de cenizas con un 16% de aumento (11.40 vs 9.80).

El mejoramiento en el contenido de NP en el rastrojo de sorgo posterior a su tratamiento con NH_3 se puede atribuir a la acción del álcali sobre la pared celular primaria del esquileo que al provocar el hinchamiento de la celulosa pudo favorecer la liberación de los polipéptidos atrapados en ésta estructura.

Puesto que la microflora del rumen es altamente proteolítica, es de esperarse que la mayoría de los compuestos protéicos que entren al rumen sean degradados a péptidos y aminoácidos, los cuales posteriormente son desaminados (Ørskov, 1982), de modo que el incremento en el contenido de NP obtenido en el rastrojo de sorgo tratado con NH_3 corresponde también a una fracción altamente disponible para el animal, que será degradada principalmente a nivel ruminal, y una pequeña fracción del nitrógeno (11-17% de nitrógeno proveniente del alimento; 5-10% de nitrógeno soluble en forma de aminoácidos, ácidos nucleicos y metabolitos, Shimada, 1983) que se destinarán a la digestión posruminal.

Así, la importancia del mejoramiento obtenido en las diferentes fracciones de nitrógeno del rastrojo tratado con NH_3 va a depender más que nada de su disponibilidad para el rumiante, ya sea a nivel de rumen-retículo o bien como proteína de escape. De acuerdo a los resultados obtenidos, el incremento en el contenido de NNP atribuido a la incorporación del N- NH_3 se puede considerar como la fracción disponible principalmente para los

microorganismos del rumen, ya que ésta porción del nitrógeno es completamente soluble en agua (Dryden y Kempton, 1983), facilitando así su remoción en el rumen, para que junto con los demás compuestos del NNP (urea, nitratos, nitritos y ácidos nucleicos) presentes en el rumen se concentren en la llamada poza de amonio del rumen, permitiendo de ésta manera la síntesis de proteína microbiana.

En el Cuadro 5.2 se muestran los valores medios de las fracciones de fibra y de la DIVMS en el rastrojo de sorgo tratado con NH_3 ó con SO_2 .

La amoniación del rastrojo de sorgo produjo una solubilización de la FDN en un 10% con respecto al control (63.51 *vs* 71.28), ésto concuerda con lo reportado en la literatura (Solaiman et. al., 1979; Abidin y Kempton, 1981; Horton, 1981; Gómez et. al., 1982; Jiménez y Shimada, 1982; Llamas et. al, 1982; Streetter y Horn, 1982; Alibez et. al. 1984; Van Soest et. al., 1984; Narasareddy Reddy, 1985; Brown et.al.,1987); ésto probablemente se debió a la hidrólisis de las uniones éster del complejo lignocelulósico, por lo tanto se considera que el tratamiento tuvo efecto sobre lo que Van Soest (1985) define como la matriz insoluble de la pared celular de la planta y demás sustancias (productos de Maillard, almidón dañado, lignina y taninos, principalmente) que se encuentran asociados a ésta, y que resisten el efecto del detergente neutro; de modo que ésta reducción en el contenido de las paredes celulares indica un aumento en el contenido de componentes solubles de la fibra que pueden ser aprovechados por el animal. Por otro lado los contenidos de FDA, lignina y celulosa también se vieron reducidos después del tratamiento con NH_3 en un 13, 15 y 15% respectivamente, lo que dió como resultado un mejoramiento del 24% en la DIVMS (45.52 *vs*

Cuadro 5.2 Medias ponderadas (\pm desviación estandar) de las fracciones de fibra y digestibilidad en el rastrojo de sorgo tratado con NH₃ ó con SO₂ (experimento 1).

Tratamiento	Variable de respuesta				
	FDN	FDA	Lignina	Celulosa	DIVMS
Testigo	71.28 \pm 0.78 ^b	58.54 \pm 0.55 ^b	7.63 \pm 0.05 ^c	42.20 \pm 0.08 ^b	36.59 \pm 7.34 ^b
N	63.51 \pm 1.79 ^a	50.61 \pm 0.33 ^a	6.46 \pm 0.22 ^a	35.85 \pm 0.60 ^a	45.52 \pm 6.43 ^a
S	70.44 \pm 0.38 ^b	50.43 \pm 0.50 ^a	7.12 \pm 0.22 ^b	35.06 \pm 1.09 ^b	36.76 \pm 6.26 ^b

(a, b) Para cada parámetro valores con la misma letra son estadísticamente iguales ($P \leq 0.01$)

N Rastrojo de sorgo tratado con NH₃ (5% b.s.)
 S Rastrojo de sorgo tratado con SO₂ (5% b.s.)
 FDN Fibra detergente neutro
 FDA Fibra detergente ácido
 DIVMS Digestibilidad *in vitro* de la materia seca

36.59); en cambio el tratamiento con SO_2 no incrementó la digestibilidad ya que el contenido de paredes celulares no se vió afectado ($P < 0.01$).

El NH_3 y el SO_2 responden igualmente ($P < 0.01$) sobre el contenido de FDA y la celulosa (13 y 15% de disminución respectivamente).

La reducción en el contenido de FDA (Cuadro 5.2) del rastrojo de sorgo tratado con NH_3 ha sido observada también por otros autores (Horton, 1981; Abidin y Kempton, 1981; Jiménez y Shimada, 1982; Fahmy y Ørskov, 1984; Nasareddy y Reddy, 1985; Brown et. al., 1987) y se asocia con la solubilización de la lignina y celulosa, y que en ambas variables de respuesta se han registrado reducción en sus contenidos (Abidin y Kempton, 1981; Horton, 1981; Llamas et. al., 1982; Fahmy y Ørskov, 1984; Van Soest et. al., 1984; Narasareddy y Reddy, 1985; Brown et. al., 1987), presumiblemente como resultado de la disminución en la cristalinidad de la celulosa en forma amorfa ; así como al hinchamiento de la celulosa por la reducción en la tensión de sus puentes de hidrógeno y a la modificación de la ligaduras tipo éter (glucosídicas); y por la saponificación de los enlaces éster que unen a la lignina y la hemicelulosa (Klopfenstein et. al., 1972; Capper, et. al., 1977; Jackson, 1977; Saaenger, 1982).

El tratamiento de rastrojo de cebada con SO_2 bajo condiciones de temperatura elevada (70 C) (Ben-Ghedalia y Miron, 1981 y 1984; Miron y Ben-Ghedalia, 1987) favorece la reducción de FDN en un 33% con una solubilización total de la hemicelulosa y una reducción en los contenidos de celulosa y lignina (6 y 12% respectivamente). Al utilizar el SO_2 bajo condiciones ambientales (21 C) para tratar el rastrojo de cebada durante 24

horas (Dryden y Leng, 1988) no obtuvieron respuesta significativa sobre las fracciones de fibra; en el caso del rastrojo de sorgo tratado con SO_2 el contenido de FDN (Cuadro 5.2) no se vió afectado por el tratamiento, sin embargo si se obtuvo respuesta respecto a los contenidos de FDA, lignina y celulosa. Así de acuerdo a lo anterior se ve que es posible solubilizar parcialmente el complejo lignocelulósico de la pared celular con SO_2 utilizado bajo condiciones ambientales por un tiempo mayor de reacción (21 días); aunque ésto no fué suficiente para incrementar la digestibilidad (Cuadro 5.2), a éste respecto Ben-Ghedalia y Miron (1984) sugieren que el SO_2 además de solubilizar los polisacáridos de la pared celular también libera algunos oligosacáridos fenólicos que pueden inhibir la digestibilidad de la fracción soluble de la pared celular; de ahí que a pesar de los incrementos obtenidos en las fracciones de nitrógeno y la reducción resultante en las fracciones de fibra por el tratamiento del rastrojo con SO_2 no haya mejorado su digestibilidad.

Así la consecuencia final de los incrementos obtenidos en las fracciones de nitrógeno y de las reducciones registradas en las fracciones de fibra se vió reflejada en el aumento en la DIVMS (Cuadro 5.2) del rastrojo tratado con NH_3 (Waiss y Guggolz, 1972; Sundstol et. al., 1978; Kernan et. al., 1979; Lawlor y O'Shea, 1979; Solaiman et. al., 1979; Borhami y Sundstol, 1982; Kuhl, 1982; Llamas, et. al., 1982; Soriano, 1984; Alibez et. al., 1984; Fahmy y Ørskov, 1984; Brown et. al., 1987), lo que indica que las principales barreras (lignina y microfibrillas de la celulosa cristalina) que limitan la digestión de los carbohidratos estructurales por parte de los microorganismos ruminales han sido parcialmente removidos por el tratamiento con NH_3 . Sin embargo el mecanismo de mejoramiento de la

digestibilidad debido al tratamiento con NH_3 realmente aún no ha sido resuelto (Dryden y Leng, 1988).

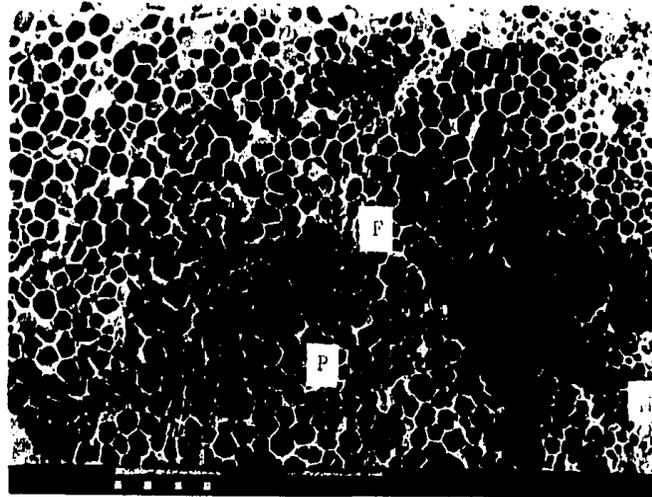
Las reacciones intramoleculares que sufren los azúcares liberados de los carbohidratos estructurales de la pared celular a partir del tratamiento alcalino también conducen a la producción de derivados furánicos, que a través de su polimerización dan lugar a pigmentos oscuros (Bodui, 1981) que es una de las características físicas observadas en los esquímos tratados con álcalis.

En la Figura 5.1 se muestra la microfotografía obtenida del SEM para una porción de tallo de rastrojo de sorgo no tratado en corte transversal con 45 aumentos. Se puede observar como los paquetes vasculares que incluyen al xilema y el floema, así como los tejidos del parénquima, esclerénquima y mesófilo se encuentran intactos.

La Figura 5.2 corresponde a un acercamiento de 150 aumentos de la Figura 5.1, donde se puede apreciar el arreglo de los conductos del haz vascular y la pared secundaria de las traqueidas en forma espiralada del xilema.

En las Figuras 5.3 y 5.4 se muestra el efecto del NH_3 sobre el rastrojo de sorgo en un tallo en corte transversal a 40 y 150 aumentos, respectivamente; en donde se puede observar como el tejido del parénquima y del mesófilo fueron deformados produciéndose la separación de éstos. Asimismo el tejido vascular se deformó, especialmente el floema que parece haberse hinchado.

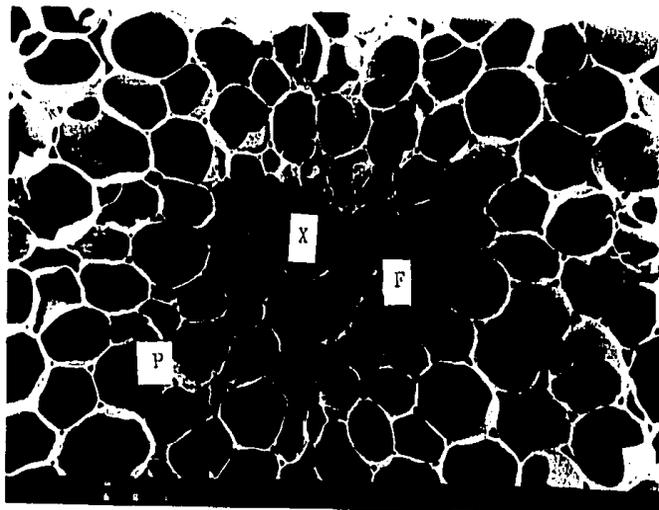
Figura 5.1 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo no tratado¹.



¹12.5 Kev., 45 X, barra = 1000 μ

M = mesofilo P = parénquima, F = floema, X = xilema.

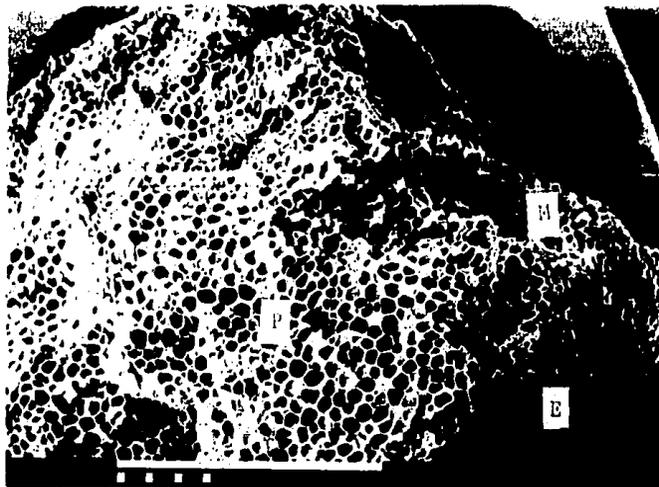
Figura 5.2 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo no tratado.



112.5 Kev., 150 X, barra = 100 μ m

P = parénquima, F = floema, X = xilema.

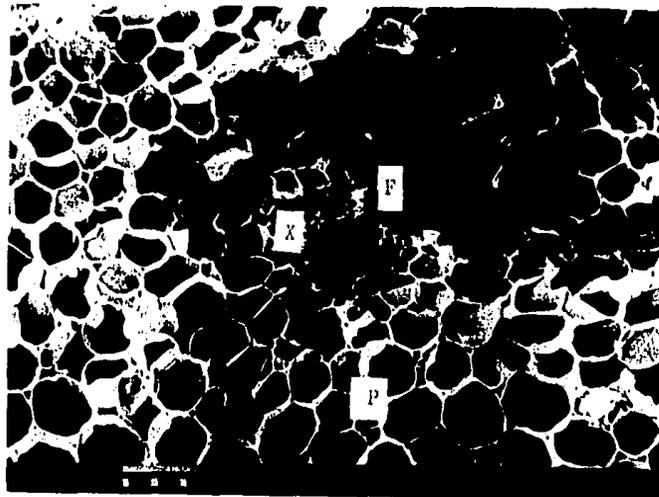
Figura 5.3 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo tratado con NH_3 ¹



¹12.5 Kev., 45 X, barra = 1000 μm

M - mesófilo P - parénquima, F - floema, X - xilema.

Figura 5.4 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo tratado con NH_3 ¹



¹12.5 Kev., 150 X, barra = 100 μm

P = parénquima, F = floema, X = xilema.

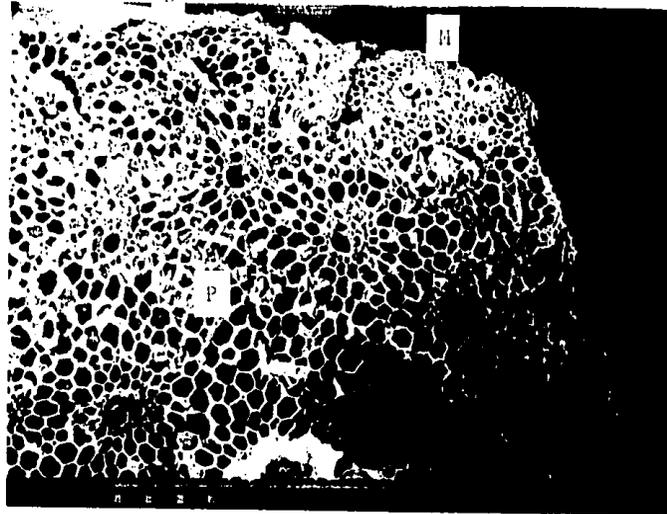
En las Figuras 5.5 y 5.6 se muestra el efecto del SO_2 sobre los tejidos estructurales del rastrojo de sorgo a 45 y 200 aumentos respectivamente, en corte transversal; en donde se puede observar la deformación que sufrieron el mesófilo, el parénquima y el sistema vascular que parecen haberse colapsado, en especial el tejido del floema.

La susceptibilidad observada a través de las microfotografías obtenidas en el SEM del tejido parenquimatoso para ser deformado por efecto de los diferentes tratamientos químicos utilizados en el rastrojo de sorgo, se pueden explicar debido a que se trata de un tejido formado principalmente por una capa delgada de celulosa y compuestos pécticos, sin una pared secundaria que le proporcione una barrera de protección. Algo semejante sucedió con el tejido del mesófilo y del floema que también son considerados tejidos parenquimatosos modificados (Cronquist, 1980; Kingsley, 1979), de ahí que generalmente todos ellos fueran fácilmente atacados por los compuestos químicos.

Un fenómeno semejante se ha observado en el patrón de digestión de los componentes estructurales de los forrajes por los microorganismos ruminales: mesófilo y floema son rápidamente degradados, seguidos por la epidermis, posteriormente el esclerénquima que es lentamente degradado y por último los tejidos vasculares que son resistentes a la digestión (Akin, 1979).

La deformación observada en los tejidos del mesófilo y del parénquima en el rastrojo de sorgo tratado con NH_3 (Figuras 5.3 y 5.4) se debe a que el álcali ataca la capa cuticular interna de su pared celular,

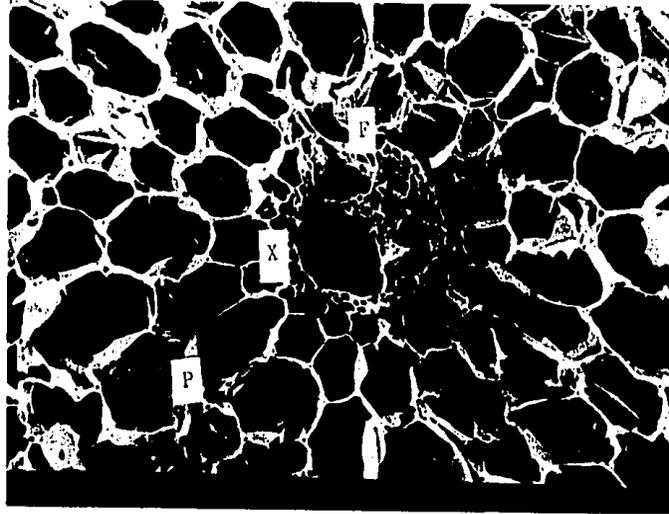
Figura 5.5 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo tratado con SO_2 ¹



¹12.5 Kev., 45 X, barra = 1000 μ

M = mesófilo P = parénquima, E = esclerénquima.

Figura 5.6 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo tratado con SO₂ ¹



¹12.5 Kev., 200 X, barra = 100 μm

P = parénquima, X = xilema, F = floema.

además de romper los enlaces de la laminilla media solubilizando las péctinas localizadas entre las células del parénquima, produciendo por lo tanto su deformación y separación (Spencer y Akin, 1980; Harbers et. al., 1982). El hinchamiento observado en las células apoya la hipótesis de Klopfenstein (1978) que menciona los cambios producidos en los enlaces del complejo lignina-polisacárido y el hinchamiento del material de la pared celular por efecto del tratamiento alcalino del esquilmo; lo cual se confirma con los resultados obtenidos del análisis químico de las fracciones de fibra, que demuestran la solubilización parcial de los componentes que constituyen la pared celular del rastrojo de sorgo.

Se ha visto que por efecto del SO_2 se produce también una solubilización parcial de los componentes de la pared celular (Cuadro 5.2), y en las Figuras 5.5 y 5.6 se puede observar como éste agente oxidante removió la cutícula que cubre los conductos del xilema y floema produciendo su solubilización (celulosa y lignina), así como la del tejido del parénquima y del mesófilo que principalmente están formados por celulosa y péctinas, ocasionando que las células de éstos tejidos perdieran su rigidez estructural y se deformaran. A pesar de que el SO_2 también actúa sobre la celulosa se puede apreciar que en éste caso no se produce el hinchamiento característico de las células por el tratamiento con NH_3 (Jackson, 1977), y en cambio se puede observar como las células de los tejidos se colapsaron, posiblemente debido a su deshidratación por efecto de la reacción entre el SO_2 y la humedad contenida por el material para formar ácido sulfúrico que es un agente desecante.

5.2 Experimento 2.

En el Cuadro 5.3 se muestran los valores medios de las fracciones de nitrógeno y el contenido de cenizas en el rastrojo de sorgo tratado bajo la combinación de NH_3 y SO_2 .

Dryden y Leng (1988) informan que cuando fué aplicado el SO_2 después del NH_3 (4.9 y 9.5% respectivamente) en rastrojo de cebada con 40% de humedad, el tratamiento combinado incrementó la cantidad de nitrógeno total retenido hasta cuatro veces más, comparado con el tratamiento exclusivo con NH_3 ; en los experimentos combinados de éste trabajo no se obtuvo tan espectacular incremento en el contenido de NT, debido a la diferencia en las condiciones del tratamiento, sin embargo si se observa que en los dos tratamientos combinados el incremento en el contenido de NT fué superior al obtenido por el simple tratamiento con NH_3 (Cuadro 5.1); éste aumento fué el resultado de la incorporación del N- NH_3 . Buttle (1974) citado por Dryden y Leng (1988) mencionan la posible reacción entre el NH_3 y el SO_2 para formar sulfito o bisulfito de amonio, que puede ser considerado como NNP soluble en agua, el cual puede ser fácilmente utilizado por la microflora ruminal de una manera tan eficiente como el nitrógeno de la urea. Aún cuando se obtuvieron resultados muy similares en ésta fracción (N- NH_3) y como consecuencia de NNP, ésto sugiere que el tratamiento previo con SO_2 aumentó la susceptibilidad de la pared celular del esquilmo por el ataque efectuado a la lignina permitiendo una distribución más eficiente del N- NH_3 aportado por el NH_3 , como se puede apreciar por el incremento registrado en el contenido de NNP que fué superior al obtenido por el tratamiento con NH_3 exclusivamente. En el

Cuadro 5.3 Medias ponderadas (\pm desviación estandar) de las fracciones de nitrógeno y contenido de cenizas en el rastrojo de sorgo tratado con la combinación de NH_3 y SO_2 . (experimento 2).

Tratamiento	Variable de respuesta					
	NT	N-NH ₃	NFDA	NNP	NP	Ce
Testigo	0.68 \pm 0.05 ^c	0.07 \pm 0.05 ^b	0.34 \pm 0.05 ^c	0.22 \pm 0.05 ^c	0.46 \pm 0.05 ^b	9.80 \pm 0.25 ^b
N	2.15 \pm 0.04 ^a	0.90 \pm 0.02 ^b	0.42 \pm 0.05 ^b	1.35 \pm 0.11 ^b	0.83 \pm 0.14 ^a	11.97 \pm 0.64 ^a
S	2.16 \pm 0.11 ^a	1.00 \pm 0.06 ^a	0.45 \pm 0.02 ^a	1.70 \pm 0.06 ^a	0.46 \pm 0.10 ^b	10.19 \pm 0.22 ^b

(a, b, c) Para cada parámetro valores con la misma letra son estadísticamente iguales. ($P \leq 0.01$)

NS Tratamiento con NH_3 (5% b.s.) y posteriormente con SO_2 (5% b.s.)
 SN Tratamiento con SO_2 (5% b.s.) y posteriormente con NH_3 (5% b.s.)
 NT Nitrógeno total
 N-NH₃ Nitrógeno amoniacal
 N-FDA Nitrógeno en fibra detergente ácido
 NNP Nitrógeno no protéico
 NP Nitrógeno protéico
 Ce Cenizas

caso del tratamiento combinado NS la aportación de NNP fué practicamente similar a la registrada por el tratamiento con NH_3 exclusivamente, lo que refuerza la acción previa del SO_2 para mejorar la fijación de N-NH_3 .

El contenido de N-FDA en ambos tratamientos combinados se incrementó, siendo superior el aumento para el tratamiento SN, lo que posiblemente se debió a la mayor fijación de nitrógeno disponible proveniente del NH_3 por el previo ataque del SO_2 sobre la pared celular, permitiendo que la lignina pudiera reaccionar más eficientemente con el; N-NH_3 para dar lugar al complejo lignina-N- NH_3 .

En el Cuadro 5.4 se muestran los valores medios de las fracciones de fibra y la DIVMS en el rastrojo de sorgo tratado bajo la combinación de NH_3 y SO_2 . Se observa que ambos tratamientos (NS y SN) respondieron con la misma intensidad sobre los contenidos de NT y la DIVMS con un incremento del 216 y 28% respectivamente, así como sobre la FDN y la C con una disminución equivalente al 12 y 14% respectivamente .

Como se sabe el NH_3 puede afectar los enlaces de los polisacáridos, alterando así la estructura física y química de la pared celular, y éste efecto es el responsable de la disminución de la cantidad de polisacáridos en la pared celular recobrados por la extracción neutro detergente (Van Soest y Robertson, 1985); puesto que el SO_2 por si solo no tuvo efecto significativo sobre ésta fracción (Cuadro 5.1), la reducción (de igual magnitud) en el contenido de FDN de los dos tratamientos combinados, se puede atribuir principalmente al efecto del NH_3 (Cuadro 5.4).

Cuadro 5.4 Medias ponderadas (\pm desviación estandar) de las fracciones de fibra y digestibilidad en el rastrojo de sorgo tratado con la combinación NH_3 y SO_2 (Experimento 2).

Tratamiento	Variable de respuesta				
	FDN	FDA	Lignina	Celulosa	DIVMS
Testigo	71.28 \pm 0.78 ^b	58.54 \pm 0.55 ^c	7.63 \pm 0.05 ^c	42.20 \pm 0.08 ^b	36.59 \pm 7.34 ^b
NS	62.12 \pm 1.69 ^a	49.07 \pm 0.73 ^a	5.79 \pm 0.28 ^a	35.95 \pm 0.28 ^a	46.92 \pm 4.98 ^a
SN	63.42 \pm 0.16 ^a	50.39 \pm 0.13 ^b	6.48 \pm 0.29 ^b	35.65 \pm 0.30 ^a	47.28 \pm 5.24 ^a

(a, b, c) Para cada parámetro valores con la misma letra son estadísticamente iguales ($P \leq 0.01$)

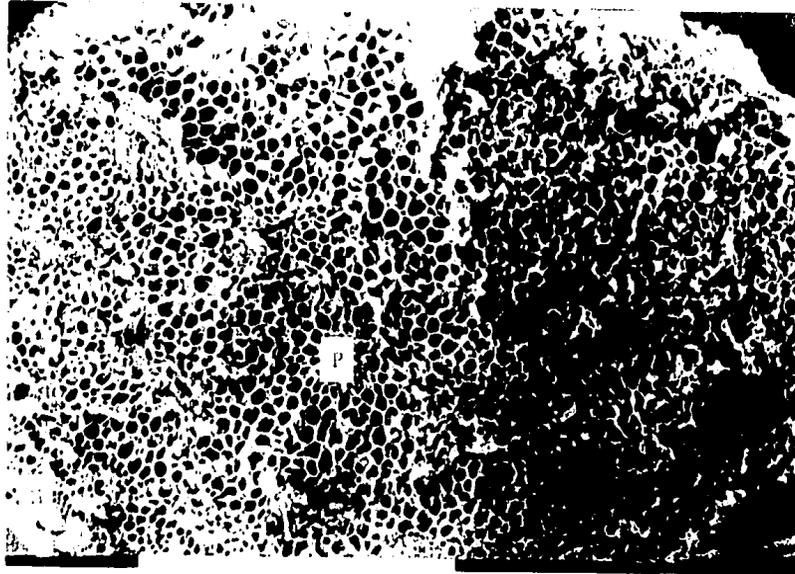
NS Tratamiento con NH_3 (5% b.s.) y posteriormente con SO_2 (5% b.s.)
 SN Tratamiento con SO_2 (5% b.s.) y posteriormente con NH_3 (5% b.s.)
 FDN Fibra detergente neutro
 FDA Fibra detergente ácido
 DIVMS Digestibilidad *in vitro* de la materia seca

Las reducciones en los contenidos de lignina y celulosa en ambos tratamientos combinados (Cuadro 5.4) son los responsables en la reducción de la FDA y como consecuencia del mejoramiento en la DIVMS, aunado esto a los incrementos obtenidos en las fracciones de nitrógeno.

Sin embargo, a pesar de las diferencias observadas en la respuesta de las fracciones de nitrógeno y de fibra en cada uno de los tratamientos combinados, cabe hacer notar que el mejoramiento en la digestibilidad resultó igual para ambos tratamientos (Cuadro 5.4), y la diferencia de ésta con respecto a la digestibilidad lograda por el tratamiento con NH_3 solamente (Cuadro 5.2) es muy pequeña (2 unidades de diferencia aproximadamente) en favor de cualquiera de los dos tratamientos combinados, esto debido a que el contenido de celulosa para los cuatro tratamientos (N, S, NS y SN) disminuyeron en la misma magnitud y por lo tanto las diferencias entre la FDA de éstos cuatro tratamientos también fueron muy pequeñas, más que nada influenciadas por los cambios ocurridos en el contenido de lignina.

El efecto del tratamiento combinado NS sobre los tejidos de la pared celular del rastrojo de sorgo se muestra en las microfotografías de las Figuras 5.7 y 5.8 a 45 y 150 aumentos respectivamente en corte transversal, en donde se observa que la deformación del mesófilo y del parénquima es de mayor magnitud pero semejante en cuanto al tipo de deformación de los tejidos producido por el tratamiento con SO_2 . El sistema vascular se muestra muy dañado.

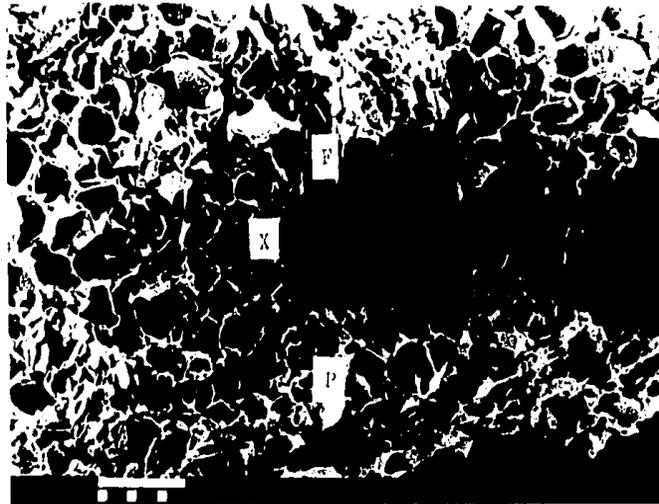
Figura 5.7 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo tratado con $\text{NH}_3 - \text{SO}_2$ ¹



¹12.5 Kev., 45 X, barra - 1000 μm

M - mesófilo, P - parénquima.

Figura 5.8 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo tratado con $\text{NH}_3 - \text{SO}_2$ ¹



¹12.5 Kev., 150 X, barra = 100 μm

P = parénquima, X = xilema, F = floema.

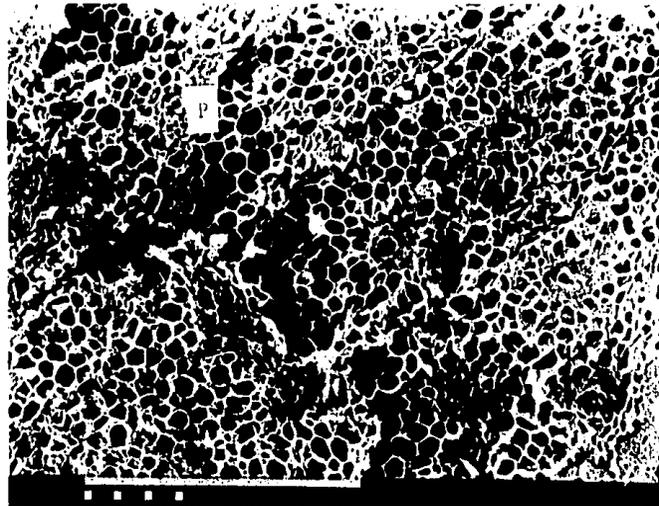
En el caso del tratamiento combinado SN (Figuras 5.9 y 5.10) el daño producido sobre la mayor parte del tejido del parénquima es parecido a la deformación que produce el NH_3 pero más severo; los cambios observados en el mesófilo son semejantes a los del tratamiento con SO_2 Igualmente que con el tratamiento NS, el sistema vascular se muestra muy dañado.

En éstos tratamientos se puede observar (Figuras 5.7, 5.8, 5.9 y 5.10) que el daño que prevalece a nivel de morfología estructural es el correspondiente al efecto del último agente químico; es importante hacer notar que el daño celular se muestra más severo cuando se trata de un tratamiento combinado que uno simple, especialmente en los tejidos lignificados (xilema y esclerénquima) que se caracterizan por su difícil remoción, por lo que se podría esperar una mayor respuesta en cuanto a su mejoramiento en la digestibilidad, sin embargo, como se vió en el análisis químico (Cuadro 5.4) realmente desde el punto de vista nutricional no es tan importante la remoción cuantitativa de la lignina como lo es la cualitativa, y el tipo de productos a los que da origen por su solubilización.

5.3 Experimento 3.

En el Cuadro 5.5 se muestran los valores medios del pH, la materia seca (MS), el contenido de cenizas (Ce) y la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) del rastrojo de sorgo tratado con soluciones alcalinas de cenizas de rastrojo de sorgo.

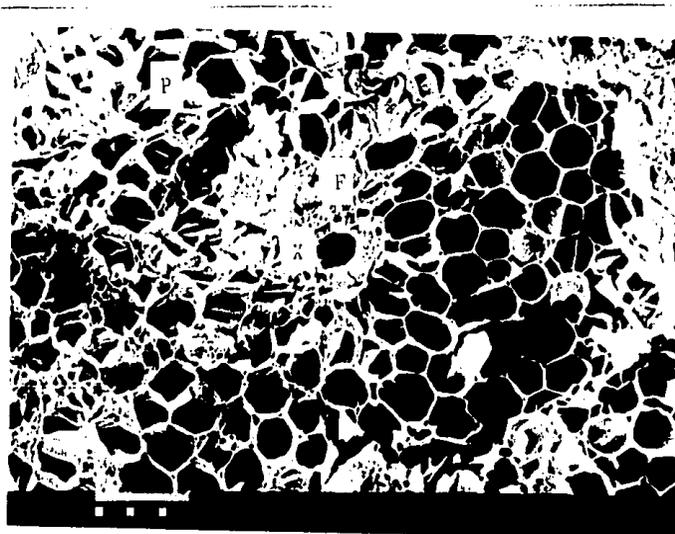
Figura 5.9 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo tratado con $\text{SO}_2 - \text{NH}_3$ 1



112.5 Kev., 45 X, barra = 1000 μm

P = parénquima.

Figura 5.10 Microfotografía de un corte transversal de tallo de rastrojo de sorgo tratado con $\text{SO}_2 - \text{NH}_3$ ¹



¹12.5 Kev., 150 X, barra = 100 m μ

P = parénquima, X = xilema, F = floema.

Cuadro 5.5 Medias ponderadas (\pm desviación estandar) de pH, contenido de cenizas y digestibilidad *in vitro* en rastrojo de sorgo tratado con soluciones alcalinas de cenizas de rastrojo de sorgo (Experimento 3).

Tratamiento	Variable de respuesta				
	pH _(i)	pH _(f)	M.S.	Ce	DIVMS
0% - 0 horas	8.00	7.87	90.26 \pm 0.60 ^b	10.36 \pm 0.40 ^b	39.41 \pm 2.88 ^a
0% - 6 horas	8.20	7.99	90.18 \pm 0.56 ^b	10.38 \pm 0.48 ^b	39.40 \pm 3.15 ^a
0% -12 horas	8.03	7.85	89.71 \pm 0.65 ^c	10.33 \pm 0.60 ^b	39.39 \pm 2.90 ^a
5% - 0 horas	9.85	9.82	90.96 \pm 0.46 ^a	10.39 \pm 0.50 ^b	39.36 \pm 3.16 ^a
5% - 6 horas	9.80	8.45	91.17 \pm 0.67 ^a	12.71 \pm 0.20 ^a	37.59 \pm 4.36 ^a
5% -12 horas	9.80	8.35	91.36 \pm 0.54 ^a	13.46 \pm 0.18 ^a	36.78 \pm 1.69 ^a
10% - 0 horas	10.16	10.10	91.12 \pm 0.66 ^a	10.47 \pm 0.21 ^b	39.03 \pm 2.16 ^a
10% - 6 horas	9.15	8.42	91.34 \pm 0.42 ^a	13.25 \pm 0.48 ^a	37.36 \pm 3.19 ^a
10% -12 horas	9.13	8.23	91.43 \pm 0.70 ^a	13.68 \pm 0.81 ^a	35.44 \pm 2.72 ^a

(a, b) Dentro de cada parámetro valores con la misma letra son estadísticamente iguales (P \leq 0.05)

pH_(i) pH inicial

pH_(f) pH final

M.S. Materia seca

Ce Contenido de cenizas

DIVMS Digestibilidad *in vitro* de la materia seca

El pH de las soluciones se incrementó al aumentar la concentración de cenizas, y disminuyó conforme se aplicó el tratamiento, especialmente con el tiempo de 12 horas de remojo.

El contenido de MS se incrementó ($P \leq 0.05$) debido al tratamiento. El contenido de cenizas también se incrementó ($P \leq 0.05$) por efecto del tratamiento, sin embargo no hubo diferencias dentro de una misma concentración conforme se aumentó el tiempo de remojo, como tampoco la hubo entre las dos concentraciones (5 y 10%) en los dos tiempos de remojo (6 y 12 horas).

La DIVMS no se vió afectada ($P \leq 0.05$) por efecto del tratamiento.

Nolte et. al (1987) mencionan que los cationes presentes en las cenizas poseen diferentes solubilidades, lo que se puede ver reflejado en su velocidad y grado de liberación dentro de la solución; de modo que el aumento registrado en el contenido de la MS y en el contenido de Ce se debe a la inclusión de los iones alcalinos presentes en la solución, incorporación que también se vió reflejada en el aumento del pH conforme se incrementó la concentración de cenizas en la solución.

La reducción que sufrió el pH de la solución alcalina conforme el tiempo de remojo avanzaba posiblemente se debió a la neutralización de los iones presentes en la solución al actuar sobre el esquilmo.

El hecho de que los iones responsables de la alcalinidad de la solución se incorporaran al material tratado, como se vió por el aumento

registrado en la concentración de cenizas del material tratado conforme se aumentó el tiempo de remojo, es un indicio de que reaccionaron químicamente con el esquileo, saponificando, teóricamente, los enlaces éster del ácido urónico y del ácido acético, así como neutralizando los grupos libres del ácido urónico (Jackson, 1977), aumentando por lo tanto la digestión ruminal de la celulosa al sufrir un incremento en sus dimensiones (hinchado)..

Sin embargo, como se observa en el Cuadro 5.5, la DIVMS no se vió afectada debido al tratamiento alcalino; tomando en cuenta que se trabajó con un método de inmersión, es posible que los nutrientes solubles contenidos *per se* en el material se hayan arrastrado, así como los producidos por efecto del tratamiento, permaneciendo los menos solubles; aún cuando de acuerdo a los resultados de las fracciones de fibra (Cuadro 5.6) no hubo diferencia significativa ($P < 0.05$) por efecto del tratamiento, si bien, se pudo detectar que en general hubo reducción en sus contenidos; Nolte et. al., (1987) explican éste comportamiento como debido a la posible adición de minerales a la fracción de cenizas y por lo tanto de la materia seca. Así la disminución de la celulosa y lignina se puede atribuir a la reducción de FDA.

Considerando que la lignina actúa como una barrera física que impide la utilización microbiana de los carbohidratos estructurales, debido a su aparente reducción (Cuadro 5.6) por efecto del tratamiento se esperaría un mejoramiento de la DIVMS, cosa que no sucedió y que podría deberse como lo explica Horton (1981) a una menor digestibilidad de la lignina residual comparada con la lignina inicial, sin descartar la importancia del

Cuadro 5.6 Medias ponderadas (\pm desviación estandar) de las fracciones de fibra del rastrojo de sorgo tratado con soluciones alcalinas de cenizas de rastrojo de sorgo (experimento 3).

Tratamiento	Fracciones de fibra			
	FDN	FDA	Lignina	Celulosa
0% - 0 horas	84.50 \pm 0.78 ^a	56.78 \pm 0.93 ^a	7.51 \pm 0.32 ^a	40.60 \pm 0.38 ^a
0% - 6 horas	84.45 \pm 0.88 ^a	56.61 \pm 1.00 ^a	7.47 \pm 0.40 ^a	40.56 \pm 0.41 ^a
0% -12 horas	84.57 \pm 0.80 ^a	56.82 \pm 0.96 ^a	7.60 \pm 0.20 ^a	40.50 \pm 0.57 ^a
5% - 0 horas	84.36 \pm 0.51 ^a	56.01 \pm 0.70 ^a	7.54 \pm 0.37 ^a	40.56 \pm 0.59 ^a
5% - 6 horas	84.44 \pm 0.74 ^a	57.78 \pm 2.83 ^a	7.54 \pm 0.16 ^a	40.49 \pm 1.10 ^a
5% -12 horas	84.50 \pm 0.55 ^a	57.74 \pm 2.37 ^a	7.35 \pm 0.12 ^a	40.47 \pm 1.06 ^a
10% - 0 horas	84.50 \pm 0.66 ^a	57.66 \pm 0.99 ^a	7.55 \pm 0.46 ^a	40.50 \pm 1.00 ^a
10% - 6 horas	84.44 \pm 0.44 ^a	56.60 \pm 0.70 ^a	7.51 \pm 0.20 ^a	40.33 \pm 1.78 ^a
10% -12 horas	84.44 \pm 1.70 ^a	56.44 \pm 0.67 ^a	7.35 \pm 0.56 ^a	40.46 \pm 0.86 ^a

(a) Dentro de cada parámetro valores con la misma letra son estadísticamente iguales ($P \leq 0.05$)

FDN Fibra detergente neutro
 FDA Fibra detergente ácido

tipo y magnitud del enlace lignina-polisacárido que se hubiera podido alterar debido al tratamiento, deprimiendo la digestibilidad (Chaves, et. al., 1982; Ford y Elliot, 1987; Shimada, 1987).

Por otro lado hay que considerar el efecto que poseen algunos minerales sobre la digestibilidad como son: Ba, B, Cr, Co, Cu, F, Mn, Mo, Se, Sr, V y Zn; que se caracterizan por inhibirla cuando se encuentran en exceso; considerando además las interrelaciones que deben existir entre los diferentes minerales para un adecuado metabolismo animal (Chamberlain y Burroughs, 1962; Evans y Davis, 1966; Martínez y Church, 1970). De modo que la adición de minerales al rastrojo debido al tratamiento con soluciones alcalinas pudo haber afectado también la respuesta de la DIVMS.

6. CONCLUSIONES

6.1 Experimento 1

El tratamiento con NH_3 de rastrojo de sorgo incrementa ($P \leq 0.01$) el contenido de NT (189%), N- NH_3 (1900%), N-FDA (41%), NP (26%), NNP (532%) y DIVMS (24%) con respecto al control; por otro lado disminuye ($P \leq 0.01$) el contenido de FDN (11%), FDA (14%), L (15%), y C (15%).

Debido a la solubilización de los componentes de la pared celular y por el rompimiento de los enlaces de la laminilla media, a nivel estructural del tejido vegetal el tratamiento con NH_3 provocó el hinchamiento de las células del parénquima.

El tratamiento con SO_2 de rastrojo de sorgo incrementa ($P \leq 0.01$) el contenido de NT (18%), N- NH_3 (429%), N-FDA (12%), NP (28%) y disminuye ($P \leq 0.010$) el contenido de FDA (14%), L (7%) y C (17%) con respecto a su valor inicial; sin embargo no se mejora la digestibilidad ($P \leq 0.01$).

Por efecto de la solubilización de la celulosa, la lignina y las pectinas por el tratamiento con SO_2 se obtuvo la deformación del tejido del parénquima, del mesófilo y de los conductos del floema y del xilema; aparentemente también se produce una deshidratación de los tejidos.

6.2 Experimento 2.

El tratamiento combinado NS de rastrojo de sorgo tuvo menor efecto ($P < 0.01$) en el mejoramiento del contenido de nitrógeno (N-NH₃, N-FDA y NNP), y respondió mejor ($P < 0.01$) en la solubilización de las fracciones de fibra que el tratamiento combinado SN; sin embargo el mejoramiento en la DIVMS fue semejante ($P < 0.01$) para ambos tratamientos combinados (28%), y la diferencia entre éste valor y el obtenido con el tratamiento con NH₃ exclusivamente fue de solo dos unidades en favor del tratamiento combinado.

El daño celular que se observa en todos los tejidos vegetales es mayor con los tratamientos combinados que con los simples, prevaleciendo el correspondiente al efecto del último agente químico utilizado.

6.3 Experimento 3.

Del tratamiento de rastrojo de sorgo con soluciones alcalinas de cenizas de rastrojo de sorgo se obtuvo que:

-Al aumentar la concentración de cenizas en la solución se incrementa el pH.

-Al aumentar el tiempo de remojo del rastrojo, el pH de la solución con cenizas disminuye.

-El contenido de materia seca y de las cenizas del rastrojo tratado se ve incrementado ($P < 0.05$) conforme aumentan la concentración de cenizas de la solución y el tiempo de remojo.

-La DIVMS no se altera por efecto de la concentración de cenizas de la solución y/o el tiempo de remojo ($P < 0.05$).

-La concentración de cenizas de la solución y el tiempo de remojo no afectan ($P < 0.05$) el contenido de FDN, FDA, L y C del rastrojo de sorgo, sin embargo sí se obtuvo una tendencia a disminuir.

En la deslignificación de un esquilmo agrícola obtenida a través de un tratamiento químico, el factor más importante a nivel de digestibilidad *in vitro* es el tipo de subproductos obtenidos por la solubilización de la lignina, así como por el tipo de enlaces presentes en ésta, más que la concentración de éste polímero.

7. APENDICE.

Cuadro 7.1 Cuadrados medios de las fracciones de nitrógeno y contenido de cenizas del rastrojo de sorgo tratado con NH₃ ó con SO₂ (Experimento 1).

Origen de la variación	G.L.	Cuadrados medios					
		NT	N-NH ₃	N-FDA	NNP	NP	Ce
Tratamiento	2	3.07**	1.65**	0.03**	2.72**	0.03**	4.62**
Error	15	2.90X10 ⁻³	2.46X10 ⁻⁴	1.32X10 ⁻⁴	1.98X10 ⁻⁴	3.44X10 ⁻³	0.36

(**P < 0.01)

NT Nitrógeno total
 N-NH Nitrógeno amoniacal
 N-FDA Nitrógeno en fibra detergente ácido
 NNP Nitrógeno no protéico
 NP Nitrógeno protéico
 Ce Cenizas

Cuadro 7.2 Cuadrados medios de las fracciones de fibra del rastrojo de sorgo tratado con NH₃ ó con SO₂ (Experimento 1).

Origen de la variación	G.L.	Cuadrados medios de las fracciones de fibra			
		FDN	FDA	Lignina	Celulosa
Tratamiento	2	109.03**	128.58**	2.06**	9 1.78**
Error	15	1.57	0.27	0.04	0.90

(**P < 0.01)

FDN Fibra detergente neutro
 FDA Fibra detergente ácido

Cuadro 7.3 Cuadrados medios de la digestibilidad del rastrojo de sorgo tratado con NH₃ ó con SO₂, y tratado bajo la combinación de NH₃ y SO₂. (Experimentos 1 y 2).

Origen de la variación	G.L.	Cuadrados medios de la DIVMS
N ó S	2	234.83*
Error	24	50.43
NS ó SN	2	331.73*
Error	24	39.81

(*P ≤ 0.05) y (**P ≤ 0.01)

N Rastrojo de sorgo tratado con NH₃ (5% b.s.).
 S Rastrojo de sorgo tratado con SO₂(5% b.s.).
 NS Rastrojo de sorgo tratado con NH₃ (5% b.s.) y posteriormente con SO₂ (5% b.s.).
 SN Rastrojo de sorgo tratado con SO₂ (5% b.s.) y posteriormente con NH₃ (5% b.s.).
 DIVMS Digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

Cuadro 7.4 Cuadrados medios de las fracciones de nitrógeno y contenido de cenizas del rastrojo de sorgo tratado con NH₃ y SO₂ (Experimento 2).

Origen de la variación	G.L.	Cuadrados medios					
		NT	N-NH ₃	N-FDA	NNP	NP	Ce
Tratamiento	2	4.37**	0.13**	0.02**	3.59**	0.24**	8.29**
Error	15	5.49X10 ⁻³	1.87X10 ⁻³	2.32X10 ⁻⁴	6.29X10 ⁻³	0.01	0.21

(**P ≤ 0.01)

NT Nitrógeno total
 N-NH Nitrógeno amoniacal
 N-FDA Nitrógeno en fibra detergente ácido
 NNP Nitrógeno no protéico
 NP Nitrógeno protéico
 Ce Cenizas

Cuadro 7.5 Cuadrados medios de las fracciones de fibra del rastrojo de sorgo tratado con NH₃ y SO₂ (Experimento 2).

Origen de la variación	G.L.	Cuadrados medios de las fracciones de fibra			
		FDN	FDA	Lignina	Celulosa
Tratamiento	2	147.06**	157.58**	5.17**	82.43**
Error	15	1.41	0.34	0.07	0.34

(**P ≤ 0.01)

FDN Fibra detergente neutro
 FDA Fibra detergente ácido

Cuadro 7.6 Cuadrados medios de las fracciones de fibra del rastrojo de sorgo tratado con soluciones alcalinas de cenizas de rastrojo de sorgo (Experimento 3).

Origen de la variación	G.L.	Cuadrados medios de las fracciones de fibra			
		FDN	FDA	Lignina	Celulosa
T	2	0.88	4.42	0.11	0.01
C	2	0.48	12.01	2.24X10 ⁻³	0.18
TC	4	0.61	4.92	0.03	0.05
Error	72	0.53	2.52	0.12	0.92

(**P ≤ 0.05)

T Tiempo de remojo del rastrojo de sorgo tratado en la solución alcalina de cenizas de rastrojo de sorgo
 C Concentración de la solución alcalina de cenizas de rastrojo de sorgo
 TC Interacción del tiempo de remojo del rastrojo de sorgo tratado en la solución alcalina de cenizas y de la concentración de la solución alcalina de cenizas de rastrojo de sorgo
 FDN Fibra detergente neutro
 FDA Fibra detergente ácido

Cuadro 7.7 Cuadrados medios del contenido de cenizas y la digestibilidad del rastrojo de sorgo tratado con soluciones alcalinas de cenizas de rastrojo de sorgo (Experimento 3)

Origen de la variación	G.L.	Cuadrados medios		
		Ce	M.S.	DIVMS
T	2	16.28*	14.32*	2.27X10 ⁷
C	2	19.50	0.19	2.20X10 ⁷
TC	4	5.83	0.89	2.28X10 ⁷
Error	72	0.23	0.11	2.28X10 ⁷

(*P ≤ 0.05)

- T Tiempo de remojo del rastrojo de sorgo tratado en la solución alcalina de cenizas de rastrojo de sorgo.
- C Concentración de la solución alcalina de cenizas de rastrojo de sorgo.
- TC Interacción del tiempo de remojo del rastrojo de sorgo tratado en la solución alcalina de cenizas y de la concentración de la solución alcalina de cenizas de rastrojo de sorgo.
- Ce Contenido de cenizas.
- M.S. Materia seca.
- DIVMS Digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

8. BIBLIOGRAFIA.

- Abidin, Z. and T.J. Klopfenstein. 1981. Effects of treatment of barley straw with anhydrous ammonia and Supplementation with heat-treated meals on feed intake and liveweight performance of lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 6:145-155.
- Aguilera, B.A. 1988. Evaluación del efecto de la suplementación de rastrojo de sorgo amoniatizado sobre la cinética ruminal y digestibilidad en borregos pelibuey. Tesis M.C. FES-Cuautitlán- UNAM, México.
- Alibez, X., F. Muñoz and R. Faci. 1984. Anhydrous ammonia-treated cereal straw for animal feeding. Some results from the mediterranean area. *Anim. Feed Sci. Technol.* 10:239-246.
- Akin, D.E., E.L. Robinson, F.E. Barton II and D.S. Himmelsbach. 1977. Changes with maturity in anatomy, histochemistry, chemistry and tissue digestibility of bermudagrass plant parts. *J. Agric. Food Chem.* 25:179-186.
- Akin, D.E. 1979. Microscopic evaluation of forage digestion by rumen microorganism-a review. *J. Anim. Sci.* 48:701-710.
- Akin, D.E. and F.E. Barton. 1983. Rumen microbial attachment and degradation of plant cell walls. *Fed. Proc.* 42:114-121.
- Anderson, V.L. and R.A. McLean. 1974. Design of experiments: A realistic approach. Ed. Marcel Dekker, Inc. New York. USA.
- Anuario Estadístico de los Estados Unidos Mexicanos. 1986. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. SSP. México.
- A.O.A.C. 1980. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. 13th. Ed. Washington, D.C. USA.
- Badui, D.S. 1981. Química de los alimentos. 1a. Ed. Alhambra Mexicana. México, D.F.
- Barton II, F.E. and D.E. Akin. 1977. Digestibility of delignified forage cells. *J. Agric. Food Chem.* 25:1299-1303.

- Ben-Ghedalia, D., G. Sheffet and J. Miron. 1980. Effect of ozone and ammonium hydroxide treatments on the composition and *in vitro* digestibility of cotton straw. *J. Sci. Food Agric.* 31:1337-1342.
- Ben-Ghedalia, D. and J. Miron. 1981. Effect of sodium hydroxide, ozone and sulphur dioxide on the composition and *in vitro* digestibility of wheat straw. *J. Sci. Food Agric.* 32:224-228.
- Ben-Ghedalia, D. and J. Miron. 1984. The response wheat straw varieties to mild sulphur dioxide treatment. *Anim. Feed Sci. Technol.* 10:269-176.
- Ben-Ghedalia, D. and J. Miron. 1984. The digestibility of wheat straw treated with sulphur dioxide. *J. Agric. Sci. Camb.* 102:517-520.
- Bohinski, R. 1978. *Bioquímica*. Ed. Fondo Educativo Interamericano, S.A. México, D.F.
- Borhami, B.E.A. and F. Sundstol. 1982. Studies on ammonia treated straw. 1. The effects of type and level of ammonia, moisture content and treated time on the digestibility *in vitro* and enzyme soluble organic matter of oat straw. *Anim. Feed Sci. Technol.* 7:45-51.
- Brown, W.F., J.D. Phillips and D. B. Jones. 1987. Ammoniation or cane molasses supplementation of low quality forages. *J. Anim. Sci.* 64:1205-1214.
- Bryant, M.P. 1973. Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. *Fed. Proc.* 32:1809-1813.
- Bunting, L.C., C.R. Richardson and R.W. Tock. 1984. Digestibility of ozone-treated sorghum stover by ruminants. *J. Agric. Sci. Camb.* 102:147-750.
- Burrit, E.A., A.S. Bittner, J.C. Street and M.J. Anderson. 1984. Correlations of phenolic acids and xylose content of cell wall with *in vitro* matter digestibility of the three maturing grasses. *J. Dairy Sci.* 67:1209-1213.
- Cajal, M.C. 1985. *Esquilmos agrícolas. Memorias del curso de engorda de ganado bovino en corrales*. APAINIP. Consultores en producción animal S.C. México, D.F.
- Capper, B.S., D.J. Morgan and W.H. Parr. 1977. Alkali-treated roughages for feeding ruminants: a review. *Trop. Sci.* 19(2):73-78.
- Cloete, S.W.P. and N.M. Kritzingler. 1984. A laboratory assessment of various treatment conditions affecting the ammoniation of wheat straw by

- urea. 1. The effect of temperature, moisture level and treatment period. S. Afr. J. Anim. Sci. 14:55-58.
- Cronquist, A. 1981. Botánica básica. 1a. Ed. CECSA. México, D.F.
- Chamberlain, C.C. and W. Burroughs. 1962. Effect of fluoride, magnesium and manganese ions on *in vitro* cellulose digestion by rumen microorganism. J. Anim. Sci. 21:428-432.
- Chaves, C.M., J.E. Moore, H.A. Moya and W.R. Ocumpaugh. 1982. Separation, identification and quantification of lignin saponification products extrated from Digitgrass and their relation to forage quality. J. Anim. Sci. 54:196-203.
- Chesson, A. 1983. A holistic approach to plant cell wall structure and degradation. Bull. R. Soc. N. Z. 20:85-90.
- Church, D.C. 1976. Digestive physiology and nutrition of ruminants. Vol. 1. Digestive physiology. 2nd. Ed. O. & Brooks Inc. USA.
- Dehoroty, B.A. 1973. Hemicellulose degradation by rummen bacteria. Fed. Proc. 32:1819-1825.
- Dryden, G. and T.J. Kempton. 1983. Digestion of organic matter and nitrogen in ammoniated barley straw. Anim. Feed Sci. Technol. 7:45-51.
- Dryden, G. and R.A. Leng. 1988. Effects of ammonia and sulphur dioxide gases on the composition and digestion of barley straw. Anim. Feed Sci. Technol. 19:121-133.
- Evans, J.L. and G.K. Davis. 1986. Influence of sulphur, molybdenum, phosphorus and copper interrelationships in cattle upon cellulose digestion *in vivo* and *in vitro*. J. Anim. Sci. 25:1014-1018.
- Fahmy, S.T.M. and E.R. Ørskov. 1984. Digestion and utilization of straw. 1. Effect of diferent chemical treatment on degradability and digestibility of barley straw by sheep. Anim. Prod. 38:69-74.
- Fahn, A. 1974. Anatomia vegetal. H. Blume Ediciones. Madrid, España.
- Flores, M.J. 1980. Utilización de esquilmos para la alimentación del ganado México Ganadero. Junio:42-61.
- Ford, C.W. and R. Elliott. 1987. Biodegradability of mature grass cell walls in relation to chemical composition and rumen microbial activity. J. Agric. Sci. Camb. 108:201-209.
- Gómez, A.R., G.H. Romero, L.G. Llamas y M.I. Santacruz. 1982. Efecto del tratamiento alcalino de la paja de trigo sobre su digestibilidad.

Boletín informativo de los avances y trabajos realizados en el CIPES-INIP. México.

- Gould, J.M. 1985. Studies on the mechanism of alkaline peroxide delignification of agricultural residues. *Biotechnol. Bioeng.* 27:225.
- Han, J.W. 1978. Microbial utilization of straw (a review). *Ad. Appl. Microbiol.* 23:119-153.
- Harbers, L.H., F.K. Bazle, D.J. Raiten and C.E. Owensby. 1981. Microbial degradation of smooth brome and tall fescue observed by scanning electron microscopy. *J. Anim. Sci.* 51:439-446.
- Harbers, L.H., G.L. Kreitner, G.V. Davis Jr, M.A. Rasmussen and L.R. Corch. 1982. Ruminant digestion of ammonium hydroxide-treated wheat straw observed by scanning electron microscopy. *J. Anim. Sci.* 54:1309-1319.
- Hoover, W.H. 1986. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *J. Dairy Sci.* 69:2755-2766.
- Horton, G.M.J. 1981. Composition and digestibility of cell wall components in cereal straw after treatments with anhydrous ammonia. *Can. J. Anim. Sci.* 61:1059-1062.
- Jackson, M.G. 1977. Review article: The alkali treatment of straw. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2:105-130.
- Jacobs, M. 1965. The chemical analysis of food products. D. Van Nostrand. Co. Toronto, Canada.
- Jiménez, A., A.S. Shimada. 1982. Comportamiento del borrego pelibuey en crecimiento alimentado en base a rastrojo de maíz tratado con álcalis (NH₃, NaOH y urea). *Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México.* INIP. México.
- Jung, H.G. and G.C. Fahey. 1983. Nutritional implications of phenolic monomers and lignin: a review. *J. Anim. Sci.* 57:206-219.
- Jung, H.H. and K.P. Vogel. 1986. Influence of lignin on digestibility of forage cell wall material. *J. Anim. Sci.* 62:1703-1712.
- Kerley, M.S., G.C. Fahey Jr., L.L. Berger, J.M. Gould and F.L. Baker. 1985. Alkaline hydrogen peroxide treatment unlocks energy in agricultural by-products. *Science.* 230:820.
- Kerley, M.S., G.C. Fahey, L.L. Berger, N.R. Merchen and J.M. Gould. 1987. Effects of treating wheat straw with pH-regulated solutions of

- alkaline hydrogen peroxide on nutrient digestion by sheep. *J. Dairy Sci.* 70:2078-2084.
- Kernan, J.A., W.L. Crowle, D.T. Spurr and E.C. Coxworth. 1979. Straw quality of cereal cultivars before and after treatment with anhydrous ammonia. *Can. J. Anim. Sci.* 59:511-517.
- Kingsley, R.S. 1979. *Introductory plant biology*. 1a. Ed. Wn. C. Brown. Company Publishers. Dubuque, Iowa, USA.
- Klopfenstein, T.J., V.E. Krause, M.J. Jones and W. Woods. 1972. Chemical treatments of low quality roughages. *J. Anim. Sci.* 35:418-422.
- Klopfenstein, T.J. 1978. Chemical treatment of crop residues. *J. Anim. Sci.* 46:841-848.
- Kuhl, G. 1982. Improve roughages quality with ammonia. *Feedlot Management*. 12-16
- Laguna, J. y G.E. Piña. 1979. *Bioquímica*. Ed. Fournier, S.A. México.
- Lawlor, M.J. and J. O'shea. 1979. The effect of ammoniation on the intake and nutritive value of straw. *Anim. Feed Sci. Technol.* 4:169-175.
- Leatherwood, J.M. 1973. Cellulose degradation by rumenococcus. *Fed. Proc.* 32:1814-1818.
- Lehninger, A.L. 1981. *Biochemistry*. 2nd. Ed. Worth Publishers. Inc. New York, USA.
- Leshem, Y, A. Goldman and A. Yulzari. 1984. Effect of pH and added ammonium hydroxide on *in vitro* digestibility of roughages of different origin treated with sodium hydroxide and ammonia. *Grass and Forage Sci.* 39:11-15.
- Luck, E. 1981. *Conservación química de los alimentos*. Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- Llamas, L.G., J.K. Ward, R. Britton y T. J. Klopfenstein. 1982. Efecto del tratamiento con diferentes niveles de amonio y dos contenidos de humedad sobre la digestión *in vitro* de la paja de trigo. *Memorias de la Reunión Anual de Investigación Pecuaria en México*.
- Macarulla, A. 1980. *Bioquímica*. Ed. Reverte, S.A. España.
- Mannitto, P. 1981. *Biosynthesis of natural products*. John Wiley & Sons. Inc. New York. USA.
- Martínez, A. and D.C. Church. 1970. Effect of various mineral elements on *in vitro* rumen cellulose digestion. *J. Anim. Sci.* 31:982-990.

- Mertens, D.R. 1977. Dietary fiber components: relationship to the rate and extent of ruminal digestion. Fed. Proc. 36:187-192.
- Miron, J. and D. Ben-Ghedalia. 1982. Effect of hydrolysing and oxidizing agents on the composition and degradation of wheat straw monosaccharides. Europ. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 15:83-87.
- Miron, J. and D. Ben-Ghedalia. 1987. Digestibility by sheep of total and cell wall monisaccharides of wheat straw treated chemically or chemically plus enzymatically. J. Dairy Sci. 70:1876.
- Muller, J. and H. Bergner. 1975. The characterisation of streaw pellets. 8.Changes in lignin by treated with ammonia. Arch. Tierernahr. 25:37-45.
- Nasareddy, G.V. and M.J. Reddy. 1985. Effect of ammonia treatment and processing of whole cotton plants as source in complete feeds for growing crossbred calves. Anim. Feed Sci. Technol. 13:93-102.
- Nolte, M.E., J.H. Cline, B.A. Dehoroty, S.C. Loerch and C.F. Parker. 1987. Treatment of wheat straw with alkaline solutions prepared from wood ashes to improve fiber utilization by ruminants. J. Anim. Sci. 64:669-677.
- Ørskov, E.R. 1982. Protein nutrition in ruminants. Academic Press New York.USA.
- Pidgen, W.J. and F. Bender. 1972. Aprovechamiento de la lignocelulosa por los rumiantes. Rev. Mundial Zootecnia. 47:7-10.
- Reeves III, J.B. 1985. Lignin composition and *in vitro* digestibility of feeds. J. Anim. Sci. 60: 316-322.
- Reeves III, J.B. 1987. Lignin and fiber compositional changes in forages over a growing season and their effects on *in vitro* digestibility. J. Anim. Sci. 70:1583-1594.
- Rode, L.M., K. J. Cheng and J. W. Costerton. 1986. Digestion by cattle of urea-treated, ammonia-treated, or rolled high-moisture barley. Can. J. Anim. Sci. 66:711-721.
- Rounds, W. and T. J. Klopfenstein. 1974. Chemicals for treating crop residues. J. Anim. Sci. 39:251 (Abstr.).
- Saaenger, P.F. 1982. Anhydrous ammonia treatment of corn stover and its effects on digestibility, intake and performance of beef cattle. J. Anim. Sci. 54:419-425.

- Santacruz, M.I., G. Llamas, R. Gomez y M. Ramirez. 1982. Respuesta de diferentes esquilmos agrícolas al tratamiento alcalino con amoníaco o hidróxido de sodio. Boletín informativo de investigaciones realizadas en el CIPES-INIP. México.
- Seigel, R.F., R.J. Bandoni, G.E. Rouse, W.B. Sehofield, and T.M.C. Taylor. 1983. El reino vegetal. Los grupos de plantas y sus relaciones evolutivas. Ed. Omega. Barcelona, España.
- Shefett, G. and D. Ben-Ghedalia. 1982. Effect of ozone and sodium treatments on the degradability of cotton straw monosaccharides by rumen microorganism. European J. Appl. Microbiol. Technol. 15:47 (Abstr.).
- Shimada, A.S. 1983. Fundamentos de nutrición animal comparativa. PAIEPEME. México, D.F.
- Shimada, A.S. 1987. Pretratamientos alcalinos de residuos fibrosos y su valor nutritivo para rumiantes. Memorias del III Congreso Nacional de la AMENA. 61-77
- Sienko, M.J. y R. Plane. 1986. Química, principios y aplicaciones. Ed. Mc. Graw Hill. USA.
- Solaiman, S.G., G. W. Horn and F. N. Owens. 1979. Ammonium hydroxide treatment on wheat straw. J. Anim. Sci. 49:802-808.
- Soriano, T. J. 1984. No desperdicie las pajas y/ó rastrojos! Alimentación Animal Aplicada. SARH-INIP. México. Fasc. 11.
- Spencer, R.R. and D.E. Akin, 1980. Rumen microbial degradation of potassium hydroxide-treated coastal bermudagrass leaf blades examined by electron microscopy. J. Anim. Sci. 51: 1189-1196.
- Stroeter, C.L. and G.W. Horn. 1982. Effect of treatment of wheat straw with ammonia and paracetic acid on digestibility *in vitro* and cell wall composition. Anim. Feed Sci. Technol. 7:325-329.
- Sundstol, F, E. Cowworth and D.N. Mowat. 1978. Improving the nutritive value of straw and other low quality roughages by treatment with ammonia. Wld. Anim. Prod. 26:13-21.
- Sundstol, F. 1984. Ammonia treatment of straw: methods for treatment and feeding experience in Norway. Anim. Feed Sci. Technol. 10:173-187.
- Tejada, H.I. 1983. Manual de laboratorio para el análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal. INIP-PAIEPEME-SARH. México, D.F.

- Van Soest, P.J., A. Mascarenhas and R.D. Hartley. 1984. Chemical properties of fibre in relation to nutritive quality of ammonia-treated forages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 10:155-164.
- Van Soest, P.J. 1982. *Nutritional ecology of the ruminant*. O & B Books. Inc. USA.
- Van Soest, P.J. and J.B. Robertson. 1985. *Analysis of forage and fibrous foods. A laboratory manual for animal science*. 613. Cornell University. USA.
- Waagepetersen, J. and K.V. Thomsen. 1977. Effect on digestibility and nitrogen content of barley straw of different ammonia treatments. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2:131-142.
- Weiss, A.C. and J. Guggolz. 1972. Improving digestibility of straw for ruminants feed by aqueous ammonia. *J. Anim. Sci.* 35:109-112.
- Waldo, D.R. and L.W. Smith. 1972. Model of cellulose disappearance from the rumen. *J. Dairy Sci.* 55:125-129.