

11662



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

**HENO DE PASTO SALADO (*Distichlis spicata*) TRATADO
QUÍMICAMENTE Y SU CALIDAD NUTRITIVA EN BORREGOS
PELIBUEY**

T E S I S

**Que para obtener el grado de
Maestro en Ciencias en el Área de la
Nutrición Animal**

PRESENTA

J. Reyes Galaviz Rodríguez

ASESOR

Dr. Armando Shimada Miyasaka.

Cuautitlan Izcalli, Edo. de México.

2005.

m345183



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Esta tesis titulada "**Heno de Pasto Salado (*Distichlis spicata*) Tratado Químicamente y su Calidad Nutritiva en Borregos Pelibuey**" fue realizada por: J. Reyes Galaviz Rodríguez, bajo la Dirección del PhD. Armando Shimada Miyasaka y del Co-Director PhD. Francisco Indalecio Juárez Lagunes, con la participación del Comité Académico del programa de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Producción y de la salud Animal, para obtener el grado de Maestro en Ciencias en el área de la Nutrición Animal, con la designación del siguiente jurado :

Presidente: M.C. Leonel Martínez Rojas

Vocal: M.C. Araceli Aguilera Barreyro

Secretario: Dr. José Luis Romano Muñoz

Primer Suplente: Dr. Francisco Indalecio Juárez Lagunes

Segundo Suplente: Dr. Armando Shimada Miyasaka

Cuautitlan Izcalli, Edo. de México, 2005.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor

Dr. Armando Shimada Miyasaka
Por su confianza, guía y motivación que me brindo.

A mi Co-asesor

Dr. Francisco Juárez Lagunes
Por su amistad, confianza y apoyo incondicional en la culminación de este trabajo.

A mi jurado

M.C. Leonel Martínez Rojas
M.C. Araceli Aguilera Barreyro
Dr. José Luis Romano Muñoz
Dr. Francisco Indalecio Juárez Lagunes
Dr. Armando Shimada Miyasaka
Por su disponibilidad en la aportación de sus conocimientos en este trabajo.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias y particularmente al C.E. Tlaxcala., por la oportunidad para la realización de esta tesis.

A la QFB Irma Tejada de Hernández

Por el apoyo y orientación en el trabajo de Laboratorio.

A los Drs. Francisco Javier Padilla Ramírez, Hector R. Vera Avila, a los M.C. Rene C. Calderón Robles, Arturo T. González Orozco y al M.V.Z. Juvencio Lagunes, Lagunes

Por su amistad y confianza brindada.

Al M.V.Z. Alvaro Álvarez Reina

Por su compañerismo en la fase experimental de este trabajo.

INDICE

	Pág.
RESUMEN	
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1. Descripción del Pasto Salado	4
2.1.1. Características botánicas	4
2.1.2. Generalidades	4
2.1.3. Distribución	4
2.1.4. Valor nutritivo	5
2.2. Henos y rastrojos	5
2.3. Tratamientos Químicos	6
2.3.1. Hidróxido de Sodio (NaOH)	6
2.3.2. Amonio (NH ₃)	7
2.4. Calidad nutritiva de los forrajes y el pasto	9
2.4.1. La composición química de los forrajes y del pasto	9
2.4.2. Contenido celular de los forrajes	10
2.4.3. Interpretación del análisis de forrajes por el sistema de Fibra Detergente	13
2.4.4. Estructura y digestibilidad de la pared celular	14
2.4.5. Factores que afectan la digestibilidad de la pared celular	19
2.4.6. La digestibilidad de los forrajes	20
2.5. Consumo voluntario	21
2.6. Métodos para la determinación de la digestibilidad de los forrajes	23
2.6.1. Método <i>in vivo</i>	26
2.6.2. Método <i>in situ</i>	27
2.6.3. Método <i>in vitro</i>	27
2.7. Cinética de la digestión	29
2.7.1. Tasa de digestión	29
2.7.2. Retraso de la digestión	32
3. OBJETIVOS	35
4. HIPOTESIS	35
5. MATERIAL Y METODOS	36
5.1. Localidad	36
5.2. Alimentos	36
5.3. Proceso de tratamiento químico	36
5.3.1. Tratamiento con amoníaco anhidro (NH ₃)	36
5.3.2. Tratamiento con hidróxido de sodio (NaOH)	37
5.3.3. Tratamiento urea (testigo)	37
5.4. Dietas experimentales	38
5.5. Animales	38
5.6. Diseño experimental	39
5.7. Modelo matemático	39
5.8. Mediciones y análisis en los animales	40
5.9. Colección de muestras biológicas	40
5.10. Digestibilidad	45
5.10.1. Digestibilidad aparente <i>in vivo</i> de materia seca	45
5.10.2. Digestibilidad <i>in situ</i> .	45

5.10.3. Determinación de la tasa de desaparición de la MS potencialmente digestible (MPD).	46
5.11. Balance de nitrógeno	46
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
7. CONCLUSIONES	60
8. BIBLIOGRAFÍA	61

INDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Composición química del pasto salado (<i>Distichlis spicata</i>).	48
Cuadro 2. Contenido de nitrógeno del heno de pasto salado tratado químicamente, %BS.	49
Cuadro 3. Pared celular, contenido celular y carbohidratos solubles del heno de pasto salado, %BS.	50
Cuadro 4. Fracciones de fibra del heno de pasto salado, %BS.	51
Cuadro 5. Consumo voluntario, digestibilidad aparente <i>in vivo</i> y ruminal de MS en borregos pelibuey consumiendo heno de pasto salado alcalinizado con NH ₃ e NaOH + urea.	53
Cuadro 6. Balance de nitrógeno en borregos Pelibuey consumiendo pasto salado alcalinizado con NH ₃ e NaOH + urea.	54
Cuadro 7. Cinética ruminal de sólidos en borregos Pelibuey alimentados con heno de pasto salado tratado con NH ₃ e NaOH + urea.	55
Cuadro 8. Cinética ruminal de líquidos en borregos Pelibuey alimentados con heno de pasto salado tratado con NH ₃ e NaOH + urea.	56
Cuadro 9. Producción promedio de ácidos grasos volátiles en rumen de borregos consumiendo heno de pasto salado.	57
Cuadro 10. Producción promedio de ácidos grasos volátiles en rumen de borregos consumiendo heno de pasto salado tratado químicamente.	57
Cuadro 11. Concentración de ácidos grasos volátiles en rumen de borregos consumiendo heno de pasto salado.	58

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Variación de la proporción de proteína cruda y azúcares en el contenido celular a diferentes niveles de nitrógeno en el suelo.	11

RESUMEN

El empleo de NaOH y NH₃ como aditivos en pajas y rastrojos, mejoran su valor nutritivo al favorecer consumo y digestibilidad en rumiantes. El objetivo del estudio fue comparar el efecto del NH₃ e NaOH sobre la composición química, consumo voluntario, digestibilidad aparente, fermentación ruminal, cinética ruminal, y balance de nitrógeno del pasto salado (*Distichlis spicata*), en borregos Pelibuey. Los tratamientos fueron: a) pasto salado sin aditivo + 2.33% de urea (testigo); b) pasto salado adicionado con 4% NH₃; c) pasto salado adicionado con 4% NaOH + 2.33% de urea. Se ofrecieron a 6 borregos Pelibuey fistulados ruminalmente, distribuidos en un diseño experimental cuadrado latino doble 3 X 3. A cada borrego se le ofreció heno de pasto salado a libertad de cada tratamiento, para determinar consumo de alimento diario, digestibilidad aparente, digestibilidad *in situ* a las 0, 3, 6, 12, 24, 48, y 96 horas de incubación, cinética ruminal de sólidos con marcador cromo mordante, cinética ruminal de líquidos con marcador Polietilenglicol, cuantificación de ácidos grasos volátiles por cromatografía de gases y balance de nitrógeno. Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza y las medias se compararon por el método de SNK a una ($P < 0.05$). Las medias se presentan para NH₃, NaOH y testigo siempre en ese orden. El consumo voluntario de MS, fue de 1.48^a, 1.06^b y 0.88^c kg/d. La digestibilidad aparente fue de 53.3^a, 53.5^a y 38.4^b%. La digestión ruminal (%) se mejora por efecto de los tratamientos a las 24h (25.3^b, 31.5^a y 17.8^c) y 48h (38.1^b, 41.4^a y 24.7^c), sin embargo, no existió diferencia entre los dos tratamientos alcalinos a las 96h (45.5^a, 47.9^a y 32.7^b). La cinética ruminal de sólidos presentó diferencia para volumen ruminal con relación al testigo (864.8^a, 872.0^a y 771.7^bg). La cinética de líquidos presentó diferencias para volumen, tiempo medio, flujo, recambio y tasa de pasaje de los tratamientos con el testigo, no así, entre NH₃ e NaOH. La proporción molar (%) de ácido acético, propiónico y butírico producidos en el rumen fue de 80, 13 y 7 respectivamente, no presentándose diferencias entre tratamientos. El balance de nitrógeno se reflejó en el nitrógeno absorbido con valores de 18.12^a, 13.56^b y 10.25^cg, en el nitrógeno retenido se presentó balance negativo para el testigo con -0.67^cg y para NH₃ e NaOH con 13.53^a y 8.88^bg. Se concluye que los tratamientos con NH₃ e NaOH incrementan el consumo voluntario, mejoran la digestión ruminal de la MS, favorecen una mayor retención de nitrógeno, un mayor volumen ruminal de sólidos y un menor tiempo de retención con mayor tasa de recambio de líquidos.

1. INTRODUCCION

Uno de los problemas más importantes que encara el mundo actual es poder alimentar a su creciente población humana. Para lograrlo, se deben aprovechar todos aquellos productos que sean susceptibles de ser empleados por el hombre como fuente de nutrientes para los animales productores de carne y/o leche. El uso tradicional de alimentos fibrosos como fuente de alimento para los rumiantes y herbívoros, se ha incrementado debido a su disponibilidad, que resulta en muchos de ellos, como subproductos después de ser procesados los productos primarios, lo cual permite como alternativa, poder integrarlos en raciones alimenticias para los rumiantes (Van Soest, 1994). Esto ha creado un interés en la investigación para mejorar la calidad de la fibra y que pueda ser integrada con mayor provecho a la alimentación animal (Akin, 1989).

Existen áreas con condiciones desfavorables de suelo, agua y clima, donde solamente crecen forrajes adaptados a ellas. Tal es el caso del pasto salado (*Distichlis spicata*) que pertenece a la familia de las gramíneas y que se caracteriza por crecer en suelos salino-sódicos (Mellinil y Quintanilla, 1979). El pasto salado es un forraje de pobre calidad nutritiva debido a su bajo contenido de proteína, alto contenido de fibra y minerales, con baja densidad energética (Morales y Shimada, 1982). Desde el punto de vista nutricional, el potencial de uso de forrajes fibrosos es limitado debido al escaso valor proteico y a la baja digestibilidad que presentan por su grado de lignificación (Van Soest, 1994; Jung y Deetz, 1993).

Se ha desarrollado una amplia variedad de tratamientos, tanto físicos como químicos y biológicos, para mejorar el valor nutritivo de los forrajes fibrosos de baja calidad, como las pajas y rastrojos, lográndose un aumento en la digestibilidad y el consumo voluntario en los animales y, a su vez, un incremento en la ingestión de energía (Zorrilla-Ríos *et al.*, 1991; Haddad *et al.*, 1994). Los tratamientos que han resultado más favorables son los químicos, y en especial aquellos con base en sustancias alcalinas como el hidróxido de sodio (NaOH); el hidróxido de calcio (Ca (OH)₂); el hidróxido de amonio (NH₄OH) y el amoniaco (NH₃). De estos, el NaOH es probablemente el

compuesto químico que más se ha empleado (Yassin *et al.*, 1991; Haddad *et al.*, 1994). Sin embargo, el que parece tener mayores ventajas y el que se ha popularizado mas en los últimos años es el método de amoniación, en el que se utiliza el NH_4OH o el NH_3 (Llamas-Lamas y Combs, 1990; Zorrilla-Ríos *et al.*, 1991; Haddad *et al.*, 1994), ya que estos productos ofrecen como ventaja, por un lado, aumentar la cantidad de nitrógeno sin producir o presentar álcalis residuales después del tratamiento, ya que el exceso de NH_3 se evapora y no afecta el balance de minerales y, por otro, se ha observado que el amonio previene la formación de hongos en caso de que el esquilmo contenga demasiada humedad, evitando su descomposición y la pérdida de nutrientes por efecto de la fermentación (Mason *et al.*, 1990).

Varios autores han demostrado que el contenido de proteína cruda, el coeficiente de digestibilidad de materia seca y el consumo de materia seca de pajas, rastrojos y forrajes toscos aumentan al ser procesados con amoniaco (Llamas-Lamas y Combs, 1990; Zorrilla-Ríos *et al.*, 1991; Mason *et al.*, 1990). El incremento de proteína cruda en los forrajes, es debido a la retención del nitrógeno amoniacal durante el tratamiento, y se ha observado que el porcentaje de nitrógeno fijado al forraje es de un 26% (Kellaway, 1980), o entre el 44 y 48% de lo aplicado, variando proporcionalmente al nivel del álcali utilizado (Mason *et al.*, 1990). La digestibilidad de las pajas, rastrojos y forrajes toscos tratados con álcalis se ve aumentada hasta en un 15%, ya que el tratamiento produce el rompimiento de los enlaces lábiles entre la hemicelulosa y la lignina, permitiendo así la accesibilidad de las fracciones de fibra a la acción enzimática. Además, produce aumento de tamaño o hinchazón de la celulosa de la pared celular, lo que facilita la acción de las celulasas bacterianas, al reducir la cristalización de la celulosa (Van Soest, 1994). Como resultado de estos incrementos en el porcentaje de proteína cruda y en la digestibilidad de la materia seca, se obtiene un aumento en la velocidad del vaciado ruminal con el consecuente incremento en la ingestión de materia seca. De esta manera, el animal consume mayor cantidad de energía digestible a partir del forraje. Así también, los compuestos alcalinos provocan un aumento

en la velocidad de paso de la ingesta a través del conducto gastrointestinal (Juárez, 1989).

Este estudio tiene como objetivo comparar un testigo + urea, el efecto del tratamiento químico con amonio anhidro e hidróxido de sodio + urea, sobre la calidad nutritiva del pasto salado (*Distichlis spicata*), en borregos Pelibuey.

2. ANTECEDENTES

2.1 Descripción del Pasto Salado

El pasto salado (*Distichlis spicata*) pertenece a la familia de las gramíneas. Se caracteriza por crecer en suelos salino-sódicos. A pesar de ser un forraje de baja calidad nutritiva, posee ventajas sobre otros forrajes de poder crecer en áreas donde prevalecen condiciones desfavorables de suelo, agua y clima, y otros forrajes no prosperan.

2.1.1. Características botánicas

CLASIFICACIÓN:

Familia	Gramineae
Subfamilia	Festucoidea
Tribu	Festuceae
Género	Distichlis
Especie	spicata (L) Greene

2.1.2. Generalidades

Son plantas perennes, dioicas, con rizomas fuertes, extendidos y a veces con estolones. El pasto salado es una gramínea adaptada a suelos de pantano y a altas concentraciones de sales, con pH de la capa superficial del suelo de 8.4 a 10.7. Es una gramínea importante en las etapas tempranas de sucesión. Es frecuente verla en colonias densas que excluyen cualquier otra gramínea (Rzedowski y Rzedowski, 1979), aunque pueden crecer aisladas.

2.1.3. Distribución

El zacate salado se encuentra reportado en lugares con altas concentraciones de sales, como son los valles endorreicos, litorales y esteros costeros y las ciénegas salinas. Se les ha reportado en matorral macrófilo en Sonora, en pastizales de zacate salado-zacatón en Zacatecas. También se ha encontrado en los estados de Yucatán y Quintana Roo (COTECOCA, 1998). Así como en las condiciones de salinidad del suelo que prevalece en el vaso de Texcoco en

donde es pastoreado en forma regular por el ganado, o bien es empleado como forraje de corte en forma de heno (Soriano *et al.*, 1995), donde fue utilizado, originalmente, para controlar la erosión eólica y las tolvaneras hacia la Ciudad de México.

2.1.4. Valor nutritivo

Dado que se trata de un producto pobre en cuanto a su contenido de proteína (6.4%) y de energía digestible (2.13 Mcal/kg) (Mellinil y Quintanilla, 1979; Linares, 1986), su valor nutritivo es bajo, por lo que es factible aumentar su digestibilidad con la aplicación de tratamientos químicos como el amonio anhidro (Soriano *et al.*, 1995). Pruebas realizadas con novillos de engorda alimentados con pasto salado tratado con amonio anhidro (Linares, 1986), indican que es factible obtener ganancias de peso modestas (805 g/d) utilizando niveles hasta del 80% de la dieta. Soriano *et al.* (1995) obtuvieron ganancias diarias de peso (gdp) de 126 y 162 g en borregos alimentados con pasto salado sin tratar y tratado con amonio anhidro respectivamente.

2.2. Henos y Rastrojos

El uso racional y eficiente de los recursos naturales para conjuntar y favorecer la interacción de la agricultura con la ganadería, se hace más necesario día a día. Por tal razón, se requiere utilizar todos los recursos de la producción agrícola en la alimentación animal, tal es el caso de los henos y rastrojos. En teoría, la cantidad total de rastrojos obtenidos en el mundo, podría suplir cerca del 84% de la energía y el 74% de la proteína cruda requeridas en la ganadería. Sin embargo, en la práctica la disponibilidad de los nutrientes proporcionados por los rastrojos es menor (Sundstøl y Owen, 1984). En los sistemas intensivos de producción de leche o carne, se emplean alimentos fibrosos en baja proporción como complemento necesario, sin embargo, en los sistemas extensivos de producción el empleo de estos es en mayor proporción, con la limitante de no soportar el mantenimiento de los animales, siendo solo factible con la integración de otros productos de mayor valor nutritivo.

Existen muchos heno y forrajes fibrosos que tienen potencial de ser empleados como alimento animal los cuales mejoran su calidad nutricional por medio de tratamientos físicos, químicos y biológicos, particularmente para los rumiantes, los cuales tienen como finalidad el aumentar la digestibilidad y el consumo voluntario en los animales logrando de esta manera un incremento en la ingestión de energía digestible.

2.3. Tratamientos Químicos.

2.3.1. Hidróxido de Sodio (NaOH).

Durante el ensilaje con NaOH, esencialmente se promueve la preservación por almacenaje, más que por fermentación (Yassin *et al.*, 1991). Flipot *et al.* (1976) trabajando con alfalfa achicalada, adicionaron 3% de NaOH exacerbando el problema de fermentación secundaria (clostridial) de manera que la calidad de preservación del material tratado con álcali fue menor que la del material no tratado. Bolsen *et al.* (1983) encontraron que la adición de 5% de NaOH al forraje de cebada, indujo una fermentación clostridial cosechada a 28% de MS, pero la previno en la cosechada a 36.5% de MS. La planta completa de maíz y el rastrojo de maíz estuvieron relativamente bien preservados cuando se ensilaron con 4% de NaOH (Yassin *et al.*, 1991).

El ensilado de planta completa de cebada dio valores de digestibilidad *in vitro* más bajos que ensilada con 5% de NaOH, al menos en el caso de cultivos cosechados a 38 y 46% de MS, los cuales estuvieron bien preservados (Wilkinson y González-Santillana, 1978^a).

El tratamiento de forrajes con NaOH al momento de ensilar, parece reflejar una estabilidad razonable de productos en condiciones aeróbicas una vez que el "silo" es abierto. Posiblemente el bajo contenido relativo de agua "libre" y la fermentación restringida durante el almacenaje pueden contribuir a la estabilidad (Wilkinson y González-Santillana, 1978^b).

Yassin *et al.* (1991), trabajando con forraje tratado con NaOH al 4% en ovinos, encontraron que el balance de nitrógeno se incremento de 1.6 a 2.9 g/d. Hadadd *et al.* (1994), encontraron que el almacenaje de diversos forrajes tratados con NaOH, se reflejó un incremento de la digestibilidad *in vitro* de MS, comparado con el material no tratado con álcalis. Liu *et al.* (2002), utilizando la técnica de producción de gas encontraron incrementos en la digestibilidad *in vitro*, para NaOH de 55%.

2.3.2. Amonio (NH₃)

El marcado mejoramiento en el valor alimenticio de henos, pajas y rastrojos que se obtienen con NaOH conlleva a un número de gente a estudiar otros productos químicos y métodos para mejorar la fibra como alimento. De esta manera Sundstøl y Coxworth (1984), han resumido la información generada sobre el tratamiento de fibras con amonio encontrando que el efecto del amonio sobre el rompimiento de la pared celular de las pajas se conoce desde hace mas de 50 años. Dosis crecientes de amoniaco superiores al 3% de la MS de las pajas, así como la temperatura, humedad y tiempo de tratamiento, todos parecen tener efectos positivos sobre la respuesta del tratamiento. Aunque la respuesta al amonio depende en gran medida también del material en cuestión, en algunas instancias el tratamiento es relativamente más efectivo cuando el valor inicial del forraje es bajo. Para algunos materiales pobres como la cascarilla de arroz y el bagazo, el mejoramiento por tratamiento con amonio es reducido. Las fuentes de amonio pueden ser amonio anhidro, hidróxido de amonio, urea, orina, bicarbonato de amonio y otros.

Según Zorrilla-Ríos *et al.* (1991), si el tratamiento de la paja con amonio es hecho apropiadamente, el incremento de la digestibilidad de la MS y contenido de nitrógeno es, normalmente, de 34.8 a 54.3 y 0.42 a 1.82 unidades porcentuales, respectivamente. Hay, por supuesto, algunos ejemplos en la literatura con valores mayores y menores (Sundstøl y Coxworth, 1984).

Los mismos Investigadores informan que el valor energético de pajas tratadas con amonio es considerado más bajo que el de pajas tratadas con NaOH. Sin embargo, la amoniación dobla la síntesis de nitrógeno microbiano por unidad de materia orgánica fermentada en el rumen, este valor dependerá de la composición de la dieta completa. Las pajas tratadas con amonio pueden ser comparadas con el heno de un pasto de mediana calidad. Llamas-Lamas y Combs (1990), muestran mejoras en el consumo de MS después del tratamiento con amonio en borregos, incrementando de 604 a 806 g/d, que representa un 25% adicional.

Además de mejorar el valor energético y proteico y el consumo, al amoniatizar pajas y otros materiales fibrosos se tienen ventajas:

- Muchos métodos de amoniación son simples y relativamente baratos, dependiendo del nivel de tecnología usada.
- El amonio puede tener un efecto preservativo. Ejemplo: materiales con alta humedad pueden ser almacenados.
- Semillas húmedas. Puede ser inhibida su germinación con un tratamiento efectivo con amonio.
- La cantidad de energía que se invierte en el proceso del tratamiento con amonio es pequeña en relación a la necesaria para la producción de otros alimentos.
- El tratamiento con amonio no causa contaminación en suelo y agua.

Desventajas:

- El exceso de amonio (2/3 partes) se pierde en el aire.
- Bajo ciertas condiciones el exceso de amonio puede causar toxicidad en animales estabulados.
- El valor energético de los productos finales es más bajo que los obtenidos con algunos otros métodos.
- Se deben tomar grandes cuidados en el manejo de amonio anhidro e hidróxido de amonio.

2.4. Calidad nutritiva de los forrajes y el pasto

Los factores determinantes de la calidad de los pastos son: el valor nutritivo y el consumo por el animal. Al valor nutritivo se le considera como la forma en la cual los nutrimentos contenidos en el forraje son utilizados por el animal. Entre sus componentes más importantes están: 1.-) La composición química, 2.-) La digestibilidad verdadera y 3.-) La eficiencia alimenticia en el consumo por el animal.

2.4.1. La composición química de los forrajes y del pasto

La planta está constituida por agua en cantidades variables, que dependen del grado de madurez de la planta. El resto lo constituye la materia seca, que a su vez se divide en minerales y la materia orgánica. De los constituyentes de la materia orgánica, se encuentran las fracciones nitrogenadas, de las cuales tenemos nitrógeno proteico y nitrógeno no proteico; los compuestos grasos; carbohidratos solubles como el almidón, la sacarosa y la fructosa; carbohidratos estructurales que entre los más importantes está la celulosa, la hemicelulosa y las pectinas; fenoles como la lignina y los taninos (Enríquez *et al.*, 1999).

Los forrajes difieren considerablemente en la composición química y características físicas, las cuales dependen de la especie, la etapa de crecimiento, el medio ambiente donde crecen, especialmente el clima y el suelo. El clima afecta la composición química de los forrajes y varía, dependiendo de la duración de la época seca, lo cual induce a una rápida maduración. El suelo actúa como sostén de las plantas y principal fuente de nutrimentos, influye en la composición química y el rendimiento del forraje, esto es, una deficiencia de nitrógeno y otros elementos, se traducirán en bajos contenidos de éstos en la planta. Bajo estas condiciones es necesario corregir al elemento deficiente para alcanzar una productividad óptima (Enríquez *et al.*, 1999). Sin embargo estas características nutricionales no describen adecuadamente el valor de los forrajes por lo que es necesario detallar mejor nutricionalmente tanto gramíneas como leguminosas forrajeras.

2.4.2 Contenido celular de los forrajes

Los componentes de la materia seca de los pastos se dividen en: compuestos solubles en agua, aquellos que son parte de los contenidos celulares o citoplasma de la célula, y compuestos insolubles, aquellos que forman parte de la pared celular o porción fibrosa. La disponibilidad de los componentes del contenido celular es uniforme para el animal y su asimilación se considera de casi el 100%; en cambio, los componentes de la pared celular no tienen disponibilidad nutricional uniforme para el animal y su asimilación es muy variable y depende básicamente del estado de madurez de la planta. Tanto la proteína soluble como los azúcares, son parte de los contenidos celulares y la proporción de cada uno en la planta depende de factores ambientales, como el nivel de nitrógeno, del agua en el suelo y la luz incidente principalmente. Cuando el nivel de nitrógeno del suelo es excesivo y el nivel de agua es suficiente en presencia de buena luminosidad, la planta trata de aprovechar al máximo el nitrógeno disponible y de esta manera acelera y aumenta su crecimiento por encima de lo normal. Para mantener esta alta tasa de crecimiento, la planta tiene que utilizar los azúcares provenientes de la fotosíntesis a una tasa mayor que la normal, disminuyendo su proporción en los contenidos celulares. A medida que los azúcares se remueven de los contenidos celulares, para ser utilizados en el metabolismo de la planta, ocurre en su lugar una acumulación de compuestos nitrogenados solubles (Figura 1). De esta manera se afecta la relación energía disponible a proteína en la materia seca de la planta.

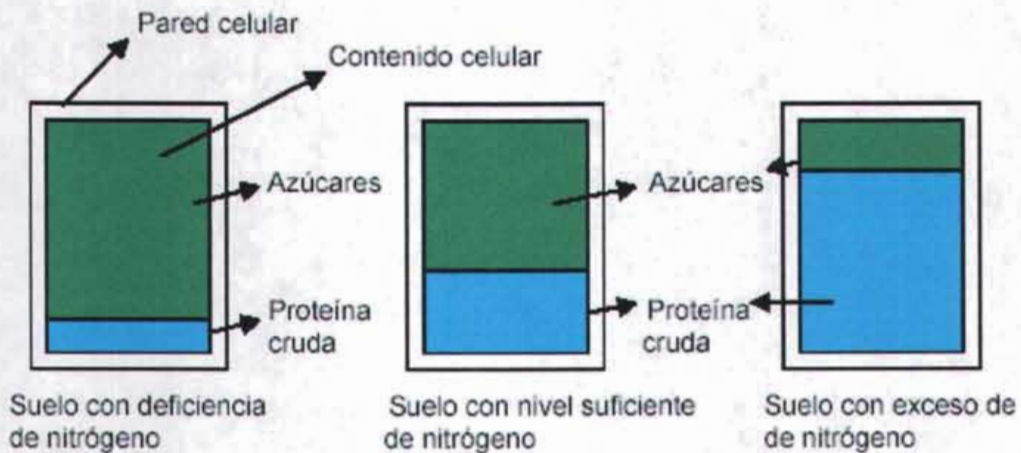


Figura 1. Variación de la proporción de proteína cruda y azúcares en el contenido celular a diferentes niveles de nitrógeno en el suelo.

La figura anterior describe las tres situaciones que pueden ocurrir en la producción de pastos según el nivel de nitrógeno del suelo.

En primer lugar, se ilustra lo que ocurre con la composición química de los contenidos celulares de un forraje que crece en un suelo deficiente en nitrógeno, en presencia de adecuada humedad y luminosidad. El resultado es un nivel muy bajo de proteína en el contenido celular, que va a estar limitando la tasa de crecimiento de este y de paso ocasionar una deficiencia de proteína cruda en la materia seca, por debajo del nivel crítico (menor del 7%). Al disminuir la tasa de crecimiento, disminuye también el metabolismo de la planta y así la respiración se hace muy baja, contribuyendo a la acumulación de azúcares en el contenido celular, ante la dificultad de utilizarlos para formar proteína para su crecimiento debido a una deficiencia de nitrógeno. La relación energía/proteína se hace muy amplia, debido a la deficiencia de nitrógeno en el pasto, lo que además va a limitar el crecimiento de microorganismos a nivel ruminal y a limitar la utilización de la fibra del forraje por el animal, afectándose su digestibilidad o calidad nutritiva (Messman *et al.*, 1991).

En segundo lugar, se presenta lo que ocurre en una planta que crece en un suelo con nivel de nitrógeno adecuado, donde se logra una proporción de proteína en el contenido celular menor al contenido de azúcares, pero

suficiente para permitir un crecimiento adecuado del pasto, lo que hace que la relación energía disponible/ proteína sea más adecuada que en el caso anterior, con mayor contenido de proteína en la materia seca, por encima del nivel crítico, y así el forraje se utiliza eficientemente a nivel ruminal, ya que hay un buen nivel de carbohidratos solubles y nitrógeno, que estimularán el crecimiento de microorganismos para la utilización más eficiente de la fracción fibrosa, dando como resultado una buena digestibilidad o calidad nutritiva.

En tercer lugar se muestra lo que sucede con un forraje que crece en un suelo con exceso de nitrógeno y condiciones favorables de luz y humedad. Cuando se da esta situación, el pasto trata de aprovechar al máximo el nitrógeno del suelo para su crecimiento, provocando una alta absorción. La tasa de crecimiento se hace muy alta y la utilización de los azúcares provenientes de la fotosíntesis se hace muy grande en procesos de respiración, para derivar energía para los procesos de crecimiento. La relación energía/proteína se hace muy estrecha o inadecuada, lo que ocasiona una deficiencia de la energía en el rumen, afectándose así el crecimiento de la flora es microbiana para la utilización de la fibra a nivel ruminal y una acumulación de nitratos, nitritos, amonio y urea a nivel sanguíneo.

Esta última situación es la que ocurre en la producción de pastos bajo regímenes de fertilización con niveles muy altos en la aplicación de fertilizantes nitrogenados u orgánicos, donde presentan contenidos de proteína cruda por encima del 20%. Ésta está formada, en su mayor parte por compuestos nitrogenados solubles como urea, ácido úrico, nitratos, amoníaco, amonio, péptidos, aminoácidos libres, aminas, amidas, clorofila, niacina, colina y betaína, entre otros.

Los animales que consumen estos pastos presentan altos contenidos de amonio, nitratos y urea en el torrente sanguíneo, toda vez que a nivel del hígado se presenta una deficiencia de esqueletos carbonados necesarios para metabolizar el alto nitrógeno sanguíneo, a causa de la deficiencia de azúcares

en el pasto. Como consecuencia de lo anterior, los animales pueden presentar intoxicaciones por nitratos al pasar éstos a nitritos (Salisbury y Ross, 1992; Buxton y Fales, 1994).

2.4.3. Interpretación del análisis de forrajes por el sistema de fibra detergente.

La metodología de análisis de forrajes más difundida es el sistema de fibras detergentes o de Van Soest con algunos agregados. Este permite separar claramente a los componentes de la pared del contenido celular y hacer una buena estimación del contenido energético.

- Pared celular o Fibra Detergente Neutro (FDN). Abarca a todos los componentes de la pared (celulosa, hemicelulosa, lignina y sílice). A medida que un forraje avanza en su estado vegetativo aumenta el contenido de FDN. Cuanto mayor sea el porcentaje de pared de un alimento, más lenta será su digestión, permaneciendo mayor tiempo en el tracto digestivo. Por eso el contenido de FDN tiene una correlación negativa con la capacidad de consumo que los animales tienen sobre ese alimento. A mayor FDN, menor consumo.

Una vaca lechera puede comer hasta el 1.2% de su peso vivo de FDN. Por eso, se puede ver la correlación entre calidad, FDN y capacidad de consumo de un forraje.

-Fibra Detergente Ácido (FDA). Es lo que queda después de una digestión de la pared celular con detergente ácido y abarca a la celulosa y la lignina. Al igual que la FDN aumenta a medida que la planta madura.

Tiene una correlación negativa con la digestibilidad de un forraje, a mayor FDA, menor digestibilidad y menor contenido energético.

El sistema de análisis que usa detergentes fue originalmente desarrollado para resolver el problema analítico relativo a la dieta de rumiantes, específicamente de forrajes. El objetivo del análisis es fraccionar el alimento en entidades químicas de acuerdo a su disponibilidad nutritiva. La fibra es un producto analítico con características nutricionales que describe a aquellos componentes

del forraje de baja solubilidad en un sistema de solventes específicos (detergente ácido y neutro) y son relativamente menos digestibles que el almidón. Este sistema reconoce que las asociaciones fisicoquímicas de los macropolímeros constituyentes son más importantes en determinar su disponibilidad que la composición química intrínseca. Basándose en esto, Van Soest *et al.* (1991), señalan que este sistema reconoce dos fracciones:

La primera fracción (soluble en detergente neutro) corresponde al contenido celular, compuesta por carbohidratos no estructurales, lípidos, la mayor parte de las proteínas y fibra soluble (también llamada polisacáridos no-amiláceos), esta última corresponde a las pectinas y β -glucanos, los cuales son solubles pero resistentes a las enzimas de mamíferos, son componentes de la pared celular que no tienen enlaces covalentes con la lignina y están completamente disponibles a la fermentación en el rumen.

La segunda fracción (insoluble en detergente neutro) corresponde a la pared celular insoluble, cuya disponibilidad está controlada por las características estructurales que ligan a la celulosa, hemicelulosas y lignina. Como pasos posteriores, las hemicelulosas son disueltas en detergente ácido y la fracción insoluble (fibra detergente ácido), representada por lignina y celulosa principalmente, puede ser tratada con permanganato de potasio o ácido sulfúrico, para separar la celulosa de la lignina.

Aparentemente no existen sistemas químico-analíticos que separen a los carbohidratos estructurales en fracciones digestibles e indigestibles. Dicha separación es obtenida por el uso de bacterias ruminales, por métodos enzimáticos o por pruebas de digestibilidad *in vivo* e *in situ* (Van Soest, 1994).

2.4.4. Estructura y digestibilidad de la pared celular

La estructura y función de la pared celular está controlada por la composición y organización de los componentes individuales. La pared celular está compuesta principalmente de azúcares dispuestos en polisacáridos de

composición y estructura variable, ácido hidroxicinámico, lignina, proteína, iones y agua (Van Soest *et al.*, 1991; McCann *et al.*, 2001).

Los estudios sobre la composición de la pared celular y su digestibilidad, generalmente utilizan tejidos de plantas, que son una mezcla heterogénea de tipos celulares. Las paredes de los diferentes tipos celulares varían mucho en sus características químicas y de digestión, por lo que dichos estudios son difíciles de interpretar a escala molecular. (Fontaine *et al.*, 2003; Gibeaut y Carpita, 1994; Roberts, 1990).

La caracterización estructural de la pared de tipos celulares individuales es crítica para la determinación de la relación de los componentes de la pared y la digestibilidad; sin embargo, existen pocos estudios cuantitativos sobre la composición de los diferentes tipos celulares, debido a las dificultades en la separación de los tipos específicos de células en los tejidos de las plantas.

Estudios con tipos celulares de *Lolium perenne* y *L. multiflorum* reportan que el contenido de xilosa fue mayor en la pared celular de células fibrosas que en las mesófilas, reflejando un mayor contenido de hemicelulosa en las células fibrosas, la concentración de ácidos fenólicos esterificados y grupos acetilo también fueron considerablemente mayores en las células fibrosas. Las células mesófilas fueron degradadas más rápido que las fibrosas, no encontrándose evidencias de una degradación preferencial de algún polisacárido componente de la pared celular durante la fermentación, dado que los monosacáridos constituyentes desaparecieron a una tasa similar a la desaparición de la materia seca (MS). Los autores concluyen que el grado de lignificación y la formación de complejos lignina-carbohidratos son los factores que controlan la degradación de la pared. Este y otro trabajo con paja de cebada indican que todos los polisacáridos dentro de la matriz de la pared celular son igualmente afectados por la lignificación (Jung y Allen, 1995).

En otros estudios, la tasa de degradación de la celulosa no cambió cuando la pared celular fue delignificada; sin embargo, la reducción en el tamaño de partícula (lo cual incrementa el área superficial) tuvo un efecto positivo sobre la degradación de la celulosa. La delignificación incrementó la tasa de degradación de polisacáridos no celulósicos en un grado mayor que la reducción del tamaño de partícula, por lo que los autores consideran que las características estructurales limitan la degradación de la celulosa más que la lignina, pero que la lignina tiene un efecto más profundo sobre los polisacáridos no celulósicos dentro de la matriz de la pared celular (Bourquin *et al.*, 1994).

El grado de digestión diferencial de los monosacáridos se ha interpretado como indicador de la remoción selectiva de la celulosa y hemicelulosas con alto grado de sustitución. Sin embargo, las diferencias observadas en la digestibilidad de monosacáridos pueden ser explicadas por diferencias en composición entre la pared primaria y la pared secundaria lignificada. En trabajos con *Brassica oleracea* y alfalfa, la fracción de hemicelulosa solubilizada por KOH 4M no fue tan fácilmente degradada como otros polisacáridos, mientras que la delignificación parcial de células del xilema resultaron en un incremento en la degradación. En estos trabajos, empleando diferentes tipos de tejidos se ha observado una resistencia selectiva de fracciones de carbohidratos, principalmente xilanos. Aunque está claro que la lignificación tiene el principal impacto sobre la degradación de la pared celular, su efecto puede no ser uniforme como en los pastos. Se puede interpretar que lo anterior es un reflejo de la degradación diferencial de tipos celulares y que la baja degradación de la xilosa indica que algunas paredes no contienen xilanos y son degradadas más fácilmente, mientras que otras contienen grandes cantidades y son de lenta degradación, pero algunos xilanos de algunas paredes celulares son más fácilmente degradados de algunas paredes celulares que de otras (Hespell y Whitehead, 1990).

La lignificación de la pared celular de las plantas ha sido correlacionada con una reducción en la degradabilidad de la MS y la concentración *in vitro* de

ácidos grasos volátiles del forraje de arbustos que crecen en México, similarmente el contenido de lignina también ha sido relacionado a una baja digestibilidad *in vitro* e *in situ* de la MS y concentración *in vitro* de ácidos grasos volátiles en hojas de arbustos de México (Van Soest, 1994; Ramírez *et al.*, 1986).

Lo anterior puede ser debido a una baja digestibilidad de los polisacáridos estructurales, aunque los mecanismos responsables no han sido establecidos (Jung y Allen, 1995), hay una creciente especulación de que la utilización de la pared celular del forraje como fuente de energía está regulada por la naturaleza de enlaces cruzados de los componentes de la pared (Fry, 2004).

La cantidad de lignina puede ser el factor clave que limite la degradación de la pared celular; sin embargo la organización de la matriz de la pared, en la cual se encuentra la lignina, puede regular el grado de su influencia sobre la degradación de los polisacáridos de la pared (Jung y Allen, 1995).

Se han propuesto tres posibles mecanismos mediante los cuales la lignificación puede limitar la fermentación microbiana o hidrólisis enzimática de los polisacáridos de la pared celular: 1) un efecto tóxico de la lignina sobre los microorganismos del rumen; 2) impedimento causado por los enlaces lignina-polisacáridos que limita el acceso de enzimas a carbohidratos específicos y 3) un medio ambiente hidrofóbico creado por la lignina que impide la acción de enzimas, las cuales requieren un medio acuoso (Jung y Deetz, 1993).

Jung y Deetz (1993), revisaron estos mecanismos y concluyeron que la hidrofobicidad y la toxicidad de la lignina son mecanismos de inhibición que son poco probable de afectar, cuantitativamente, la degradación de la pared celular en el rumen, en un grado significativo.

Otro factor en el forraje, además de la lignina, que limita la degradación de la pared celular es la cutícula que contiene ceras y polímeros cerosos, su efecto

sobre la degradación parece estar limitado a la membrana cuticular (Van Soest, 1994). La cutina, ceras y suberina pueden influir la digestión, la cutina y las ceras están adheridas a la pared de la epidermis sobre la superficie de la planta. La cutina está frecuentemente esterificada con ácidos fenólicos y en asociación no covalente con la pectina de la pared celular epidermal. Estos compuestos forman una barrera disfuncional que impide la digestibilidad del tejido intacto. La suberina, a diferencia de la cutina, es una parte integral de la pared celular y puede estar esterificada con monómeros, oligómeros fenólicos y lignina (Morrison *et al.*, 2003; Van Soest, 1994).

El sílice tiene efecto negativo sobre la digestibilidad de los pastos, causando un decremento de un 3% en la digestibilidad *in vitro* de la MS por unidad de incremento de sílice, principalmente por decremento en la digestión de los polisacáridos de la pared celular (Smith *et al.*, 1971). Se ha encontrado que el contenido de sílice está asociado con una baja digestibilidad de la fibra e interactúa con la lignina (Van Soest, 1993). La presencia de taninos en la fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) indica que están fuertemente ligados a la fibra. La fibra ligada a taninos puede resistir su degradación por los microorganismos ruminales y también los taninos libres pueden inactivar los microorganismos y sus enzimas. Consecuentemente la fermentación pudiera ser inhibida en el rumen. Reed *et al.* (1982), estudiaron el efecto de los taninos condensados provenientes de *L. corniculatus* sobre la bacteria ruminal *Fibrobacter succinógenes* S85. Ellos observaron que los efectos inhibitorios de los taninos condensados sobre la digestión de la celulosa pudieran deberse no sólo a la inactivación de enzimas extracelulares, sino que también pudieran interferir en la adhesión de la bacteria sobre la celulosa. La inhibición de la digestión de la celulosa pudiera producir una reducción en la producción de energía metabolizable en el rumen. Por lo tanto, se daría una inhibición en la producción de ácidos grasos volátiles, en un sistema ruminal *in vitro*, causada por la presencia de taninos condensados purificados de *L. corniculatus*. La disponibilidad de la proteína microbiana rica

en aminoácidos esenciales puede ser limitada debido a los efectos bacteriostáticos y bactericidas de los taninos en el rumen (Van Soest, 1994).

La identificación de factores estructurales específicos, limitantes de la degradación es compleja y la importancia relativa de cada uno de ellos puede variar con la madurez del forraje; sin embargo, esta información contribuye en gran medida a incrementar la utilización de la energía contenida en la pared celular del forraje. Esto puede sentar las bases para programas de mejoramiento genético o de manipulación biotecnológica, dirigidos a hacer más eficiente la utilización de recursos forrajeros tanto domesticados como silvestres ó nativos.

2.4.5. Factores que afectan la digestibilidad de la pared celular

Los rumiantes han desarrollado la habilidad de utilizar el material vegetativo de las plantas como su única fuente de nutrientes, por medio de los microorganismos que alojan en su rumen. Aproximadamente del 35 a 80% de la materia orgánica (MO) de los tejidos vegetales está contenida en la pared celular, la cual proporciona rigidez estructural a la planta. Sin embargo, los rumiantes que dependen exclusivamente de las plantas consumidas en libre pastoreo obtienen sólo de un 30 a 40% de la energía digestible consumida de la pared celular del forraje (Jung y Allen, 1995).

Se han reportado animales que consumen altos niveles de forraje con alta concentración de pared celular y baja digestibilidad y, por lo tanto, la disponibilidad de energía en su dieta es limitada (Galyean y Goetsch, 1993). Dependiendo de la constitución de la pared celular, su digestibilidad varía; de 100% en las células mesófilas a 0% en el xilema, esta variación ocurre en diferentes tejidos dentro de una parte de planta y entre tejidos similares en diferentes especies de forraje (Akin, 1989).

Dependiendo del tipo de tejido y a medida que la célula de la planta madura, la pared celular se ensancha y comúnmente produce una pared secundaria de composición distinta, con una notable deposición de constituyentes aromáticos,

por lo que ocurren, concomitantemente, cambios químicos y anatómicos, afectando la digestibilidad. Sin embargo las diferencias en estructura pueden o no influir significativamente la tasa y grado de digestión del forraje; por ejemplo, las diferencias conformacionales entre la orientación de los componentes fenólicos relativas a los polisacáridos con los que se asocian, pueden sólo ser importantes si dichos polisacáridos contribuyen, en cantidades significantes, a la composición total de un tipo particular de tejido susceptible a la degradación. Asimismo, es posible que una moderada lignificación pueda limitar el acceso microbiano a los tejidos y un mayor grado de lignificación no tenga ningún efecto a menos que se disemine a otros tejidos (Salisbury y Ross, 1992; Buxton y Fales, 1994).

2.4.6. La digestibilidad de los forrajes

La digestibilidad es un importante componente del valor nutritivo de los alimentos, que expresa la proporción digerida con respecto al total del alimento ingerido por el animal. Este término se define comúnmente como la diferencia entre el alimento consumido y el material excretado en las heces lo que es aparentemente absorbido en el tubo digestivo por los animales y se expresa como porcentaje del alimento consumido.

Las especies forrajeras que mantienen alta digestibilidad por periodos prolongados en la estación de crecimiento, son de alto valor para la producción animal, con relación a aquellos que tienen alta digestibilidad en su estado juvenil o etapas tempranas de rebrote, pero su digestibilidad decrece rápidamente.

El contenido celular de los pastos es altamente digestible (98%) por los rumiantes, mientras que la digestibilidad de la pared celular varía grandemente (20 – 80%). Esta digestibilidad depende del contenido de lignina en la pared celular. Por otro lado, el parénquima contenido principalmente en las hojas es un tejido bastante bajo en lignina y su digestibilidad es alta mientras que el esclerénquima (abundante en los tallos) y la pared celular del haz vascular,

están altamente lignificadas. Por lo tanto, la digestibilidad depende de la proporción de parénquima y esclerénquima más el empaquetamiento vascular. Esto explica una mayor digestibilidad en las hojas que en los tallos.

2.5. Consumo voluntario

El consumo voluntario del rumiante está limitado por factores de índole física cuando el alimento tiene una digestibilidad inferior al 65% o una concentración de energía digestible por debajo de 10.8 MJ/kg (AFRC, 1991).

En este rango se encuentran los pastos y forrajes toscos, determinado en gran medida por su tenor fibroso. El llenado del tubo digestivo por la distensión rumino-abdominal, actuará como señal reguladora que una vez integrada por el hipotálamo, determinará la cantidad de lastre fibroso que puede retenerse. Este lastre fibroso dependerá del peso vivo y estado fisiológico del animal (Van Soest, 1994).

Es posible afirmar que al variar el estado fisiológico también lo harán los requerimientos nutricionales y el consumo se ajustará a las necesidades de cada animal. En el periodo de crecimiento el animal presentará mayor consumo por unidad de peso metabólico ($\text{kg}^{0.75}$) que un adulto no lactante. Asimismo, durante la lactancia se observa hiperfagia en ovejas y en vacas particularmente, durante la lactancia media y final (AFRC, 1991).

El consumo diario de materia seca es el factor individual más importante entre los que determinan el valor nutritivo de los pastos tropicales, cualquier limitación en el consumo de nutrientes reducirá la eficiencia global de la conversión alimenticia en productos animales (Kennedy *et al.*, 1986). El resultado práctico es que la relación entre consumo y producción puede ser la clave del éxito en cualquier empresa pecuaria, al poder cubrir los requerimientos de los animales e incrementar la productividad.

Anteriormente se creía que la hoja y el tallo con una misma digestibilidad eran consumidos en similar cantidad. Sin embargo, posteriormente se comprobó que

la hoja se consume en mayor proporción, ya sea de gramínea o de leguminosa, con diferencias hasta de 42%, con relación al consumo de los tallos, con un valor distinto solo del 1% de digestibilidad entre hojas y tallos (Rafiq *et al.*, 2002). El mayor consumo de las hojas se asoció con un período más corto de retención, comparado con la fracción de los tallos, lo que permite un desalojo más rápido del rumen para continuar con el consumo de forraje. Por lo mismo, las leguminosas se consumen en mayor proporción que las gramíneas.

Los factores relativos al animal, que limitan el consumo voluntario se pueden agrupar en físicos y metabólicos. La hipótesis de los factores físicos esta basada en la velocidad de desaparición de la digesta del retículo rúmen (Kennedy *et al.*, 1986). La hipótesis de los mecanismos quimiostáticos y fisiológicos por Baile y Forbes, (1974).

Se conoce de la relación general de la regulación del consumo voluntario donde éste es restringido por medios físicos (distensión) con alimentos de bajo valor nutritivo y por mecanismos químicos ó térmicos con valores nutritivos superiores. En un punto dado, el consumo de MS desciende mientras que el incremento en la concentración energética de la ración permite mantener el consumo de energía.

También se ha concluido que los factores físicos limitan en gran proporción el consumo voluntario en los animales alimentados con pastos y forrajes. El consumo voluntario de ciertas dietas de forrajes está limitado por la capacidad del retículo - rumen y la magnitud del tiempo de estancia del alimento en este órgano.

Por lo tanto, el consumo estaría inversamente relacionado con el tiempo de retención del alimento en el rúmen (Rees y Minson, 1976). La carga de digesta en el retículo rumen será reducida por ruptura, absorción y por el pasaje de las fracciones remanentes hacia el omaso, abomaso e intestino.

Van Soest (1994), enfatiza el papel de la pared celular, la rumia y la velocidad de pasaje como factores dominantes en la regulación del consumo voluntario de forrajes; indica además que el consumo de forrajes por los rumiantes está limitado por los constituyentes de las paredes celulares incluyendo la celulosa, hemicelulosa, lignina, compuestos nitrogenados lignificados y proteína ligada a la fibra cuando éstos componentes vegetales exceden del 55 al 60% de la MS.

Se ha resaltado que la velocidad de desaparición de la digesta del retículo - rumen depende principalmente de su velocidad de digestión la que a su vez está en relación directa con la composición química del alimento consumido. Así, las fracciones más rápidamente digeridas del forraje no ocuparán espacio en el rumen por un tiempo prolongado en comparación con los componentes de las paredes celulares del forraje (Forbes, 1986).

Si se considera que la pared celular es la fracción de los forrajes que más lentamente se digiere y que la velocidad de fermentación es el factor que más limita el consumo de los alimentos fibrosos sería razonable pensar que la pared celular está relacionada con el control del consumo voluntario de los pastos y forrajes. El estudio de las curvas de fermentación o digestibilidades acumulativas (tasas de digestión) ha posibilitado sugerir la existencia en el sistema de dos formas de carbohidratos celulósicos digeribles y una fracción no digerible (Mertens, 1987).

2.6. Métodos para la determinación de la digestibilidad de los forrajes

La producción de un animal que consume pastos está determinada por la cantidad consumida, lo que se traduce en los constituyentes químicos ingeridos (Van Soest, 1994). Sin embargo, la eficiencia de utilización de los nutrimentos está influida por las características físicas y químicas del pasto y el estado fisiológico del animal.

Es por ello que, desde hace algunos años se tratan de desarrollar métodos de laboratorio para determinar la calidad del forraje y se han hecho estimaciones

directas del contenido de sustancias digeribles o no digeribles e indirectas como la ganancia de peso vivo, total de nutrimentos digeribles, digestibilidad y sus relaciones con la composición química del pasto.

Uno de los indicadores más utilizados para determinar la calidad del pasto ha sido la digestibilidad, pero éste no debe ser el único criterio que se deba considerar ya que existen otros constituyentes que deben ser evaluados como son la lignina y el sílice, entre otras sustancias que pueden producir efectos negativos en el animal en la digestibilidad del forraje.

Siempre que se discute el problema de analizar forrajes en el laboratorio, se debe determinar claramente para qué queremos obtener esos análisis. Cuando lo que se intenta es constatar la calidad de algún forraje disponible en gran cantidad, sobre todo si es muy común y ha sido analizado muchas veces con anterioridad, probablemente lo que más convenga sea realizar parte de un análisis químico proximal como la proteína cruda o las cenizas, y cotejar los resultados con las tablas existentes de composición química de alimentos.

Sin embargo, el análisis químico proximal presenta muchas deficiencias para predecir o evaluar los alimentos destinados a los rumiantes, ya que algunos de sus componentes no representan fracciones químicas o nutritivas con un comportamiento definitivo en la fisiología digestiva del rumiante.

En este sentido Chemey *et al.* (1993) han señalado una serie de técnicas para determinar la composición química y digestibilidad que pueden ser utilizadas de acuerdo con las características técnico-económicas del laboratorio donde se efectúe.

El conocimiento de la composición química de los alimentos y su potencial de digestión, nos permite su utilización en una forma más racional e indican cuales requerimientos nutricionales satisfacen, con lo que se pueden evitar deficiencias o excesos de nutrimentos. El análisis de digestibilidad es entonces

indispensable para establecer programas de alimentación que sean adecuados tanto para los animales como para el hombre que los alimenta.

La digestibilidad del pasto ha sido correlacionada con distintos compuestos químicos y se obtuvieron las respuestas más variadas. Su correlación con la proteína bruta ha sido, generalmente, baja. Sin embargo, se ha observado que cuando se tiene en consideración el nivel del fertilizante nitrogenado y la edad del pasto es posible obtener un coeficiente de correlación más elevado (Van Soest, 1994).

La fibra cruda también ha sido estudiada en este sentido y se logró un rango muy amplio para el coeficiente de correlación. Esto es lógico que ocurra ya que esta fracción está integrada por el complejo lignocelulósico el cual puede ser hidrolizado durante su determinación, introduciendo así una fuente de variación.

La fórmula y principios generales son los siguientes:

$$\text{Digestibilidad \%} = \frac{\text{lo consumido} - \text{lo excretado}}{\text{lo consumido}} \times 100$$

El coeficiente de digestibilidad comúnmente manejado en la literatura, en tablas de composición de alimentos y en informes de experimentos son valores de digestibilidad aparente. El concepto de digestibilidad verdadera es un concepto teórico; para su determinación se requeriría hacer una diferenciación de los componentes que aparecen en las heces no son de origen alimenticio directo, sino de origen metabólico, también hay que considerar el metano que habiendo siendo digerido no es absorbido.

Sin embargo, en teoría la digestibilidad de componentes como la FDN, son digestibilidades verdaderas ya que no puede haber FDN de origen metabólico. De esta manera se ha intentado determinar la digestibilidad verdadera al cuantificar las paredes celulares en heces y considerar que el material

desaparecido en el proceso no es de origen metabólico o bacteriano, el procedimiento es válido cuando se trabaja sólo en base a materia orgánica (libre de minerales).

El coeficiente de digestibilidad no es la medida ideal para indicar el valor nutritivo de un alimento, pero no hay duda de que refleja en gran medida el nivel de aprovechamiento que se puede esperar de los alimentos y nutrientes suministrados al ganado y constituye una información de mucho mayor valor que el simple análisis proximal.

Entre los métodos biológicos con que contamos para medir la digestibilidad de los alimentos tenemos los siguientes: *in vivo*, *in situ* e *in vitro* (Stern *et al.*, 1997; Bohnert *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2002).

2.6.1. Método *in vivo*

Con este método se puede determinar la digestibilidad de las fracciones del alimento como la celulosa, la materia orgánica, la materia seca y otras. Por lo tanto, es necesario hacer las especificaciones correspondientes.

El método *in vivo* es ampliamente empleado para el estudio de la calidad y suele ser utilizado como el sistema patrón o de referencia con respecto a otros sistemas. Este consiste en medir directamente en el animal el efecto de la digestión en el pasto, es decir, la disolución o desaparición de una determinada entidad.

Las pruebas que utilizan animales para la determinación del valor nutritivo de un alimento son probablemente las más idóneas ya que evalúan factores atribuibles tanto al animal como al alimento mismo. Este procedimiento, desafortunadamente es lento en su conducción además de tener un costo elevado. Por esta razón se han desarrollado otros tipos de técnicas para medir el valor nutritivo de los alimentos en una forma menos costosa y más rápida (Bohnert *et al.*, 2002).

2.6.2. Método *in situ*

Con esta técnica, además de medir la digestibilidad propiamente dicha, se puede estudiar la extensión y velocidad de la digestión, efectos de la dieta y de la suplementación, entre otros aspectos. A pesar de lo antes señalado este método tiene varias fuentes de error. Entre ellos tenemos: la dieta del animal, tamaño, tipo y diámetro de la bolsa, tamaño y peso de la muestra, número de muestras, forma de la suspensión y tiempo de permanencia de la bolsa en el rumen, así como su modo de extracción.

Todo esto hace que su estandarización sea laboriosa y que sin un adecuado trabajo sistemático la variación en los resultados sea grande. No obstante, esta variante, es muy útil sobre todo en aquellos casos en que la cantidad de muestra analizada es numerosa, como es el caso de los programas de mejora genética de pastos (Van Soest, 1994).

Esta técnica se basa en la interpretación de la desaparición del material colocado en una bolsa de nylon que es introducida en el rumen de animales fistulados y canulados. La desaparición se mide en intervalos periódicos, hasta un tiempo aproximado de 96 horas.

La digestibilidad *in situ* presenta algunas importantes ventajas sobre la *in vitro*, entre ellas que la digestión se lleva a cabo en el rumen con la participación de microorganismos ruminales en su ecosistema natural. Sin embargo su uso para predecir el valor nutritivo de un alimento se ve limitado por una mayor variabilidad y a la dificultad para realizar una estandarización adecuada que permitiera llevarla a cabo en forma similar a lo que ocurre con el método *in vitro* (Stern *et al.*, 1997).

2.6.3 Método *in vitro*

Esta técnica se sugiere para determinar la digestibilidad verdadera *in vitro* de la materia seca y orgánica de los forrajes. La técnica ha sido comparada con la

digestibilidad *in vivo* encontrando una buena correlación ($r^2 = 0.92$) en pastos tropicales (Van Soest, 1966).

Los métodos de laboratorio para la estimación del valor nutritivo del forraje, son métodos muy útiles para comparar gran cantidad de muestras, pero esos valores suministran solamente estimaciones del valor nutritivo, y las recomendaciones no deben de ser hechas sin antes establecer una fuerte correlación con el desarrollo del animal (Cherney *et al.*, 1993).

En 1980, la Asociación Europea de Producción Animal recomendó que debido a que la digestión del rumiante es muy complicada, la digestibilidad *in vivo* de forrajes de baja calidad a nivel de mantenimiento es sobre estimada para producción; en estas condiciones el sistema *in vitro* pudiera ser más reproducible.

Por otro lado, el factor determinante de la digestibilidad de los alimentos para rumiantes es la fermentación de las paredes celulares por los microorganismos del rumen y en el proceso *in vitro* obtenemos una respuesta fisiológico química que se asemeja parcialmente a lo que ocurre en el animal.

Los métodos utilizados para determinar digestibilidad *in vitro* comprenden dos fases de 48 horas cada una: a).- La fase bacteriana o celulolítica y b).- La fase enzimática o de extracción con solución neutro detergente. Ambas tienen tres puntos en común: 1.- La utilización de una muestra; 2.- El uso de una solución amortiguadora y 3.- El inóculo ruminal (Tilley y Terry, 1963; Van Soest, 1994).

La digestibilidad *in vitro* se basa en la primera etapa en una fermentación en un sistema cerrado, es decir, los productos de la fermentación no son removidos. La fermentación es producida por microorganismos añadidos en el líquido ruminal utilizado como inóculo.

Sin embargo, la fermentación en estas condiciones no refleja de ninguna manera lo que realmente sucede en el rumen, ya que éste es un sistema abierto con condiciones muy especiales y por lo tanto, es incorrecto el término "rumen artificial" para describir esta técnica.

En la siguiente etapa de esta técnica se lleva a cabo una segunda digestión con solución FDN, que tiene como objetivo eliminar la proteína microbiana existente dejando únicamente la materia seca no digerida. Esta etapa es comparativa con lo que sucede en el abomaso. Es importante señalar que la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) no considera la digestión intestinal y aún más importante en este método no se toma en cuenta la excreción endógena producida en el animal. Considerando esta situación, se recomienda que esta técnica sea utilizada para predecir el valor nutritivo de alimentos vegetales, especialmente forrajes, así como para estudiar factores que afectan la digestibilidad de los mismos.

Como su nombre indica, el método *in vitro* consiste en reproducir en cristal o en condiciones de laboratorio lo que sucede en el organismo animal mediante una realización, lo más fiel posible de las condiciones y formas en que sucede lo que se desea conocer.

Sin embargo, este sistema está sujeto a toda una serie de variaciones que pueden alterar el verdadero resultado del análisis como son: a) .- La concentración y cantidad de inóculo, b).-Dieta del animal donador, c).- Condiciones y tiempo de incubación, d).- Temperatura, e).- pH y anaerobiosis y f).- Peso y tamaño de la muestra. Por estas razones tiene que hacerse un estricto control de todos los factores que intervienen en esta técnica con el objetivo de obtener buenos resultados (Stern *et al.*, 1997).

2.7. Cinética de la digestión

2.7.1. Tasa de digestión

La desaparición del forraje desde el tubo digestivo puede ser descrita por dos grandes procesos: digestión y pasaje. El dinámico proceso digestivo puede ser

dividido conceptualmente en tres componentes los cuales pueden variar entre forrajes: el tamaño de las fracciones potencialmente digestibles, tasa de digestión y digestión retrasada.

La tasa de digestión se refiere a la cantidad de alimento que puede ser digerida por unidad de tiempo y es esencialmente una función fisicoquímica de la dieta (Van Soest, 1994). La composición de la dieta y su calidad, deficiencia, exceso y disponibilidad de nutrimentos determinan la velocidad de digestión. Generalmente los compuestos solubles tales como azúcares son fermentados muy rápido y lógicamente los menos solubles son atacados mas lentamente; o sea la proteína insoluble, por ejemplo, tiende a ser atacada mas lentamente que la proteína soluble y el nitrógeno no proteico (NNP).

Los carbohidratos estructurales tales como la celulosa, son fermentados mas lentamente que los carbohidratos de almacenamiento, por ejemplo almidón. La fermentación de carbohidratos complejos depende de una adecuada nutrición microbiana y de que haya un buen aporte de nitrógeno y cofactores.

El término de tasa de digestión, se utiliza en referencia a la digestión acumulativa del forraje, para su descripción matemática, se requiere de una ecuación con porcentajes fraccionales de digestión, lo cual fue simplificado por Waldo *et al.* (1972).

Chesson (1993), notó que no toda la celulosa en el pasto era potencialmente digestible, por lo que sugirió que, la potencialidad de la celulosa digestible siguiera una cinética de primer orden y que pudiera ser descrita por un porcentaje fraccional constante de digestión. Mertens y Ely (1982) probaron el modelo cinético de primer orden de digestión de la celulosa y observaron una línea semilogarítmica, la cual indica la conducta de la cinética de primer orden de la fracción digestiva de la celulosa.

Smith *et al.* (1971) y Mertens y Ely (1982) observaron que la pared de la célula del forraje tiene modelos de conducta de primer orden. Sin embargo, el modelo

simple de la digestión puede ser mejorado para describir con más exactitud las curvas acumulativas durante la digestión del forraje.

Es importante señalar que el forraje en estudio se tiene que incubar por duplicado y a diferentes tiempos de acuerdo a la primera etapa de la DIVMS. Se recomiendan los siguientes tiempos: 0, 1.5, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 24, 36, 48, 72 y 96 horas; al residuo de las 96 horas de digestión se le considera fibra indigestible (o extensión máxima de la digestión) y la diferencia con la cantidad de FDN en la muestra original es la fibra potencialmente digestible (FPD). En algunos forrajes en que la digestión procede lentamente; como en el caso de las gramíneas tropicales y es necesario tomar el tiempo de 96 horas como la extensión máxima de digestión.

La tasa de digestión se obtiene sobre la FPD, graficando en forma semilogarítmica, el logaritmo natural de la FPD aún no digerida a las diferentes horas de incubación. La pendiente (coeficiente de regresión) de la recta obtenida corresponde a la tasa de digestión (kd). En la gráfica también se obtiene un tiempo discreto de retraso ("lag") del inicio de fermentación, extrapolando al tiempo a cero digestión, la ecuación de regresión obtenida y determinando el valor de X (tiempo), al que se "inició" la digestión (Mertens y Ely, 1982).

Las tasas de digestión son frecuentemente presentadas como curvas acumulativas. Ellas, son usadas para demostrar la diversidad en las paredes celulares de la planta.

La fermentación no uniforme de la pared celular de la planta ofrece especial problema. Las curvas acumulativas revelan la presencia de una retrasada e incompleta digestión en los demás sustratos, característica que no puede ser resuelta por fraccionamiento químico de las paredes celulares.

De los tres componentes del modelo de digestión, el tamaño de la fracción potencialmente digestible ha mostrado contener gran efecto sobre la digestibilidad de los forrajes en las fracciones a y b (Mertens, 1987; Mertens y Ely, 1979). Aquellos factores que pueden afectar la extensión potencial de la digestión incluyen, la composición química, la morfología de la planta y la cristalización.

Mertens y Ely (1979) reportaron que los componentes del modelo de digestión están consistentemente relacionados con la composición química de los forrajes. A la vez observaron correlaciones de 78% o más, entre lignina y las 72h de FDN indigestible, tiempo que ellos usaron para predecir la fracción potencialmente digestible.

Mertens y Ely (1979) sugirieron que a mayor porcentaje de lignina se limita el porcentaje potencial de la digestión. El sílice también limita la digestión, como la lignina en algunas plantas. Van Soest *et al.* (1991), observaron que los efectos de la morfología de la planta se debe al contenido de lignina.

La estimación de la máxima extensión de la digestión puede ser aproximada en varios caminos. Uno es por un largo periodo de digestión con bolsa nylon o con un sistema del tipo Tilley-Terry. Los tiempos de fermentación pueden cambiar dependiendo del sustrato y el residuo puede ser extraído con detergente neutro para remover la contaminación microbiana.

Tales valores son útiles en el uso del residuo indigestible como un estimador de la máxima extensión o como un marcador interno. La cantidad de la materia absolutamente indigestible puede ser estimada desde una regresión de el recíproco del sustrato residual en el recíproco del tiempo.

2.7.2. Retraso de la digestión

Si el suministro de sustrato en sistemas puros excede la capacidad de la población microbiana y sus enzimas, la tasa de digestión tiende a ser del orden

cero, que es, directamente proporcional al tiempo y mas lento que el límite intrínseco impuesto por el sustrato y la cantidad digerida por unidad de tiempo es menor que si la cantidad de enzimas fuera la adecuada. En un sistema microbiano, el crecimiento de la población puede causar un incremento en la producción enzimática y finalmente saturar al sustrato, pero el efecto neto es un retraso (Mertens y Loften, 1980).

Varios modelos pueden ser propuestos para describir el retraso. Esos modelos caen en dos categorías: a) retraso discreto, donde el retraso es un finito de unidad de tiempo y b) retraso cinético, el cual permite un retraso por decremento exponencial en tiempo (Van Milgen, 1992). Algunos modelos pueden estar basados en experiencias empíricas aplicando una ecuación de regresión incluyendo una desaparición logarítmica en tiempo. Otros son mas rígidos, pero carecen de evidencias experimentales que lo soporten.

La incapacidad de la fermentación del rumen para manejar el sustrato a la máxima tasa posible ocurre particularmente inmediatamente después de la comida y esto probablemente sea el efecto usualmente observado de un retraso inicial en la tasa de fermentación.

La variación en la velocidad de la fermentación durante y después de la comida puede ser influenciada por la ingestión de aire, por temperatura (agua fría o alimento) y por cambios en la presión osmótica. El retraso puede ser debido a otros factores como capacidad de los microbios, incluyendo factores físicos como velocidad de hidratación del sustrato, velocidad de solución, la unión de las especies celulolíticas con los componentes de la fibra y nutrientes (Pell y Schofield, 1993).

Algunos sustratos tales como las celulosas puras tienen intrínsecamente largos tiempos de retraso. En los sistemas *in vitro* puede ser artificialmente inducido el retraso por una mala técnica anaeróbica o falta de cofactores en el medio (Mabjeesh *et al.*, 2000).

En determinaciones de tasas de digestión en pastos tropicales, Ortiz, (1988), encontró resultados para tasa de digestión (kd %/h), de fibra potencialmente digestible (FPD) y fase lag, de 3.0 %, 80.68 % y 11.5h, respectivamente. Así también, Juárez *et al.* (1999), en trabajos sobre tasas de digestión en 4 gramíneas tropicales, encontraron rangos de 4.8 a 6.0 %/h.

3. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Comparar contra un testigo + urea, el efecto del tratamiento químico con amonio anhidro e hidróxido de sodio + urea, sobre la calidad nutritiva del pasto salado (*Distichlis spicata*) en borregos Pelibuey.

OBJETIVOS PARTICULARES

Comparar contra un testigo + urea, el efecto de la adición de amonio anhidro e hidróxido de sodio + urea, sobre la composición química, consumo voluntario, fermentación ruminal, cinética ruminal, digestibilidad aparente y balance de nitrógeno del heno de pasto salado (*Distichlis spicata*) en borregos Pelibuey.

4. HIPOTESIS

HIPOTESIS

El tratamiento químico con amonio anhidro e hidróxido de sodio mejoran la composición química, consumo voluntario, fermentación ruminal, cinética ruminal, digestibilidad aparente y balance de nitrógeno del heno de pasto salado (*Distichlis spicata*), en borregos Pelibuey.

5. MATERIALES Y METODOS

5.1. Localidad

Este trabajo se realizó en el INIFAP, en las instalaciones del Centro Nacional de Investigación en Microbiología Animal, Palo Alto, D.F., kilómetro 15.5 de la carretera México–Toluca. Con respecto al meridiano de Greenwich tiene su localización a los 19°, 29' 40" de latitud norte y a los 99°, 15' 69" de longitud oeste. La altura sobre el nivel del mar es de 2724 m y la precipitación pluvial media de 950 mm.

5.2. Alimentos

El heno de pasto salado utilizado se obtuvo de pastizales del Vaso de Texcoco, localizado a una latitud norte de 19° 22' y longitud oeste de 98° 54' a una altura de 2,236 msnm. Tiene un clima BS₁ Kw (w) (1') de acuerdo a la clasificación climática de Köppen, con una temperatura media anual de 15.3 °C, temperatura máxima extrema de 36 °C, temperatura mínima extrema de – 11 °C, precipitación anual de 600 mm. Este pasto se cortó y se transportó para su análisis y utilización. Previo al tratamiento químico, se le determinó materia seca (94%) y de acuerdo a esta se calculó el porcentaje de aditivo que debería agregarse a cada tratamiento.

5.3. Proceso del tratamiento químico

5.3.1. Tratamiento con amoníaco anhidro (NH₃)

Se efectuó según el método noruego descrito por Sundstøl *et al.* (1978), con el objeto de obtener una relación en base seca de 96 partes de pasto salado por 4 de NH₃ y consistió en lo siguiente:

En un silo de trinchera se hizo una pila de aproximadamente 300 pacas de pasto salado henificado (6,280 kg), en lo alto se colocaron unas pacas formando una cúspide, con el objeto de permitir que escurriera el agua en caso de lluvia. El material fue cubierto en su totalidad con plástico transparente de 0.4 mm de espesor, con la finalidad que estuviera hermético. En el centro de la pila se dejó un orificio por el cual se introdujo un tubo galvanizado de 6 m de

largo y un diámetro de 5 cm, por medio del cual se inyectó el amoniaco anhidro (uso agrícola). El tubo se conectó a un regulador adaptado a un tanque de acero de 500 litros de capacidad, que contenía 240 kg de amoniaco anhidro, mismo que fue inyectado al pasto por un periodo de tres horas (1.33 kg/ min.). Al término de la inyección del gas se cerró la válvula del tanque y el pasto permaneció en tratamiento por 30 días; trascurrido este tiempo se retiró el plástico y el material se dejó orear por siete días, sin ser removido. El pasto sin tratar se almacenó durante este tiempo en una bodega. Los pastos (tratado y sin tratar) se picaron en un molino de martillos, quedando partículas de 1.5 cm.

5.3.2. Tratamiento con hidróxido de sodio (NaOH)

El tratamiento del pasto salado con hidróxido de sodio se efectuó siguiendo las técnicas del método modificado de Beckman descrito por Jackson (1978), en una solución de NaOH al 40% con objeto de obtener una relación en base seca de 96 partes de pasto salado por 4 de NaOH, así mismo se adiciono la urea necesaria (2.33%) para que las dietas fueran isonitrogenadas. Se aplicó por aspersión directa, dejándose reposar por un espacio de 24 hrs, se almaceno y posteriormente se molió en un molino de martillos, quedando partículas de 1.5 cm.

5.3.3. Tratamiento urea (testigo)

Al tratamiento con urea (testigo) se le agregó la (2.33%) para equilibrar el nitrógeno y así tener los tres tratamientos con la misma proporción de nitrógeno (isonitrogenados); se trató de mantener la misma dilución al 40%, con el objeto de proporcionar la misma cantidad de agua en los tratamientos, se almacenó y se molió en un molino de martillos al igual que los pastos tratados, quedando partículas de 1.5 cm, antes y después de los tratamientos se efectuaron los siguientes análisis.

- Materia seca (Tejada, 1985).
- Glúcidos solubles por el método basado en la relación de Fenol-Sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956).

- Nitrógeno total empleando el método de Kjeldhal (AOAC, 1990).
- Nitrógeno amoniacal por el método de óxido de magnesio (Lyman *et al.*, 1953).
- Fibra detergente neutro de acuerdo al método descrito por Van Soest y Wine (1967).
- Fibra detergente ácido y hemicelulosa (Van Soest, 1963).
- Celulosa lignina por el método de permanganato de potasio y calcinación, descrito por Van Soest y Wine (1968).
- Cenizas (AOAC, 1990).

5.4. Dietas experimentales

Tratamiento I. Pasto salado sin tratar + 2.33% de urea (testigo)

Tratamiento II. Pasto salado tratado con 4% de amonio anhidro (NH₃)

Tratamiento III. Pasto salado tratado con 4% de hidróxido de sodio (NaOH) + 2.33% de urea.

La utilización de urea en los tratamientos I y III fue con el fin de tener las tres dietas, las cuales fueron analizadas químicamente para corroborar si contaban con la misma proporción de nitrógeno (isonitrogenadas), previamente mencionado para el caso del tratamiento testigo. Dependiendo del tratamiento, cada borrego recibió diariamente a las 8:00 a.m., heno de pasto salado; todos dispusieron de agua y minerales a libertad.

5.5. Animales

Para la prueba biológica, se emplearon 6 borregos adultos, machos de la raza Pelibuey, con un peso vivo promedio de 29.3 kg ± 5.4 kg, desparasitados, tanto interna como externamente, fistulados ruminalmente según la técnica de Hecker (1969), provistos de una cánula flexible de Jarret (Rivas *et al.*, 1983) y alojados en jaulas metabólicas con comedero y bebedero individual.

Las siguientes variables de respuesta se tomaron por tratamiento, en cada periodo y cada borrego.

- Consumo diario de alimento
- Concentración de ácido acético; ácido propiónico y ácido butírico
- Volumen ruminal
- Tiempo medio de retención
- Flujo ruminal
- Recambio ruminal
- Digestión ruminal de la materia seca (24, 48 y 96h)
- Tasa de digestión ruminal de la materia seca
- Digestibilidad aparente de la materia seca
- Balance de nitrógeno

5.6. Diseño Experimental

Los animales se distribuyeron al azar en un diseño cuadrado latino doble 3 tratamientos x 3 periodos x 2 repeticiones (borregos) (Kuehl, 1994), donde en cada periodo, dos borregos recibieron un tratamiento. El experimento consistió en tres periodos de 21 días de duración cada uno. Los primeros 14 días se emplearon para adaptar a los animales a cada una de las dietas ofrecidas a libertad y en los siete días restantes de consumo controlado y de toma de muestras biológicas y de alimento.

5.7. Modelo matemático

$$Y_{ijkl} = M + Q_i + Z(i) + R(i)j + N(ij) + C(i)k + \bar{N}(ik) + T_l + E(ijkl)$$

DONDE:

Y_{ijkl} = Variable a ser analizada del i-ésimo cuadro, j-ésimo hilera (periodo), k-ésima columna (borrego) y l-ésimo tratamiento.

M = Media poblacional

Q_i = Efecto del i-ésimo cuadro

$Z(i)$ = Error de restricción debido a la azarización en el i-ésimo cuadro.

$R(i)j$ = Efecto de la j-ésima hilera dentro del i-ésimo cuadro

$N(ij)$ = Error de restricción debido a la azarización en la j -ésima hilera dentro del i -ésimo cuadro

$C(i)k$ = Efecto de la k -ésima columna dentro del i -ésimo cuadro

$\tilde{N}(ik)$ = Error de restricción debido a la azarización en la k -ésima columna dentro del i -ésimo cuadro.

Tl = Efecto del l -ésimo tratamiento

$E(ijkl)$ = Error experimental del i -ésimo cuadro, j -ésima hilera, k -ésima columna y el l -ésimo tratamiento estimado por el residuo. NID $(0, \pi^2)$.

La comparación de medias se realizó por la prueba de Student-Newman-Keuls (SNK), a una ($P < 0.05$) (Kuehl, 1994).

5.8. Mediciones y análisis en los animales

Peso corporal.- Los borregos se pesaron individualmente con una báscula de plataforma (capacidad 500 kg). El pesaje se realizó al inicio y al final de cada período experimental, previo ayuno de agua y de alimento de 12h.

Consumo de alimento.- En los primeros 14 días de cada periodo experimental se ofreció diariamente el heno de pasto salado de cada uno de los tratamientos, una sola vez al día, a la misma hora. Se ofreció agua a libertad y una premezcla comercial de minerales. En la fase de toma de muestras, se registraron las cantidades de alimento ofrecido, así como el rechazado.

5.9. Colección de muestras biológicas

1. **Colección de heces.**- Durante el periodo de colección de heces, se colectó el total de cada 24 horas, se pesaron y se mezclaron, tomando el 10% del peso total para constituir la muestra total por repetición, manteniéndose en congelación para su determinación posterior de nitrógeno.

2. **Colección de orina.**- La colección de orina se efectuó paralelamente a la de heces, cada 24 horas, a las 9:00 a.m. Con el fin de evitar la pérdida de constituyentes volátiles, se adicionó al recipiente colector de orina 70 ml de HCl

al 25%, se tomó el 10% del volumen total, para después constituir la muestra total por repetición, manteniéndose estas muestras en congelación para la determinación posterior de nitrógeno.

3. Colección de líquido ruminal.- En el 13avo. día de cada periodo experimental, se extrajeron muestras de 50 ml de líquido ruminal, vía fístula ruminal a las 0,1.5, 3, 6, 12 y 24 horas después de ofrecer el alimento, con el propósito de conservarlo se le agregó 1 ml de una solución 2:1 v/v de ácido ortofosfórico al 85% y ácido fórmico al 25% y se mantuvieron en congelación a 20 °C bajo cero, para las mediciones siguientes:

3.1 Determinación de ácidos grasos volátiles.

Para la determinación de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico), de líquido ruminal de los borregos alimentados con los tratamientos del Pasto Salado, fue por cromatografía de gases, según la técnica de Cottyn y Boucque (1968b).

3.2 Tasa de pasaje de sólidos y líquidos.

Se realizaron las estimaciones a través de marcadores externos. Cada marcador se aplicó a los borregos en una sola dosis a través de la fístula ruminal a las 8:00 a.m. (antes de ofrecer alimento).

3.2.1 Marcado de sólidos.

Se utilizó la técnica de la fibra amordantada con cromo (Uden *et al.*,1980). El procedimiento para amordantar la fibra vegetal con cromo fue:

Preparación de la muestra

- a) Preparación de la fibra.- La fibra empleada fue heno de pasto salado, que fue lavada por el siguiente procedimiento: el pasto primero fue hervido con detergente en ollas de presión, varias veces, hasta remover el material soluble que pudiera reaccionar con el mordante. Posteriormente la fibra preparada fue lavada con agua y acetona y secada a 65 °C durante 48h.

- b) Amordantado de la fibra.- Al pasto preparado se le adicionaron 4 volúmenes de una solución de dicromato de sodio ($\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) conteniendo una cantidad de cromo equivalente a 12-14% del peso de la fibra. Se tapó el recipiente con papel aluminio y se secó en una estufa de aire forzado a 100 °C durante 24h, se lavó la fibra con agua corriente. Se suspendió la fibra en agua de la llave y ácido cítrico (50% del peso de MS de la fibra) se lavó hasta que dejara de salir material soluble y se secó a 65 °C.
- c) Pruebas de estabilidad.- La estabilidad del pasto salado amordantado fue estudiada por los siguientes métodos:
- Reflujo por 1h en una solución de lauril sulfato de sodio 2.9 p/v (pH 7).
 - Incubación por 12 h a 39 °C en solución de HCl 0.1 ó 0.01 M.
- d) Características de la fibra amordantada.- El pasto amordantado tiene color verde oliva y una concentración de cromo en este caso de 13.41% con una estabilidad del 97.9% en lauril sulfato de sodio.

Dosificación de la muestra

- a) Determinación de la concentración de cromo en las heces. Se realizó por el método de la mezcla diácida (Arthur, 1970).
- b) Dosificación de los borregos.- Se depositaron 10 g de la fibra amordantada directamente en el rumen de cada borrego, vía fistula ruminal. Posteriormente se tomaron muestras en heces (aprox. 6g de MS) a las 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 60, 72, 84 y 96h. Las muestras fueron secadas en estufa de aire forzado a 65 °C durante 48h y almacenadas para medir la concentración de cromo.

Determinación de la tasa de pasaje de sólidos.- Según el procedimiento sugerido por Ferreiro (1990).

- a) Se hace una transformación logaritmo natural a los valores de la concentración de cromo de las muestras de contenido ruminal.
- b) Se correlacionan los logaritmos naturales (LN) de la concentración de cromo (eje y) contra el tiempo al que se colectaron las muestras (eje x).

Ecuación: $Y = a + bx$

En donde:

Y= es el logaritmo natural de la concentración de cromo.

a= intercepto

b= tasa de pasaje

x= Tiempo t

- c) La ecuación de regresión se utiliza para calcular el volumen del rumen, tiempo medio de retención, flujo ruminal y recambio ruminal por día, de la siguiente manera:

$$\text{Volumen ruminal, g} = \frac{\text{cromo infusionado, g}}{\text{antilogaritmo de a}}$$

$$\text{Tasa de pasaje (\% h)} = \frac{\text{flujo ruminal}}{\text{volumen ruminal}} \times 100$$

$$\text{Tiempo medio de retención (t } \frac{1}{2}\text{), h} = \frac{\text{logaritmo natural de 2}}{\text{tasa de pasaje}}$$

$$\text{Flujo ruminal, 1h} = \frac{\text{logaritmo natural de 2 X volumen ruminal}}{\text{tiempo medio}}$$

$$\text{Recambio ruminal, \%} = \frac{\text{flujo ruminal X 24}}{\text{volumen ruminal}}$$

3.2.2 Marcado de líquidos

Se utilizó la técnica del polietilenglycol (PEG) desarrollada por Mallawer y Powell (1967).

a) Preparación de PEG, infusión y toma de muestras en borregos.- Se hicieron de acuerdo a las recomendaciones sugeridas por Ferreriro (1990), en donde se prepara una solución con 12 g de PEG (Carbowax 4000, Unión Carbide Corporation, New York, peso molecular 3000 a 3700) disueltos en 70 ml de agua desionizada y se infunde vía fístula ruminal a cada borrego. La toma de muestras se realizó a las 0, 1.5, 3, 6, 12, 24, 36 y 48h. La cantidad de líquido ruminal sustraído en cada muestra fue de 10 ml.

b) Cuantificación de PEG en las muestras.- Las muestras de líquido ruminal se centrifugaron a 2500 rpm durante 10 minutos. En un matraz Erlenmeyer de 50 ml, se colocó 1 ml de sobrenadante de la muestra con PEG y como blanco se utilizó 1 ml de líquido ruminal sin PEG. Se agregaron en el siguiente orden:

- 10 ml de agua destilada
- 1 ml de cloruro de bario al 10%
- 2 ml de hidróxido de bario 0.3 N
- 2 ml de sulfato de zinc al 5%

Se taparon los matraces, se agitó vigorosamente, se dejaron en reposo por 10 minutos y se filtraron en papel Whatman No. 42. Se transfirieron 3 ml de filtrado a celdas para espectrofotómetro de 10 ml y se le añadieron 3 ml de la solución de goma arábica y 3 ml de ácido tricloroacético al 60%, se invirtió 5 veces y se dejó reposar por espacio de 60 a 90 minutos. La densidad óptica de las muestras fue leída a una longitud de onda de 650 nm en un espectrofotómetro de UV visible, marca Beckman modelo 34, digital. Una vez tomada la lectura se comparó con la curva estándar.

c) Determinación de la tasa de pasaje de líquidos. Según el procedimiento sugerido por Ferreiro (1990), ya señalado en la determinación de la tasa de pasaje de sólidos.

5.10. Digestibilidad

5.10.1. Digestibilidad aparente *in vivo* de materia seca (Shimada, 2003).

$$\text{Digestibilidad \%} = \frac{\text{lo consumido} - \text{lo excretado}}{\text{lo consumido}} \times 100$$

5.10.2. Digestibilidad *in situ*.

De las técnicas especializadas para evaluar alimentos para rumiantes es la de digestibilidad "*in situ*". Esta, mide el efecto de los microorganismos ruminales ó sus enzimas sobre el forraje, como una medida de su digestibilidad. La técnica utilizada en este estudio fue la de la bolsa de nylon (Mehrez y Ørskov, 1977).

Descripción de la técnica de la bolsa nylon.

Preparación de la muestra.- Se tomaron muestras de pasto salado en sus diferentes tratamientos, se secaron en una estufa de aire forzado a 65 °C durante 48h, posteriormente fueron molidas en un molino Willey modelo 4, usando una criba de 2 mm, utilizando un tamaño de muestra de 1-2 g por bolsa, según (Kempton, 1980).

Preparación de la bolsa.- Las bolsas utilizadas eran de tela de nylon monofilamento (monyl 10-HD) con poro de 10 x 10 micras y 5102 perforaciones por cm². Se usó una costura doble con bordes redondeados, con el fin de evitar acumulación de la muestra en las esquinas y facilitar su remoción, el tamaño útil de la bolsa fue de 57.2 cm² (11.2 X 5.2 cm), sin contar la costura y nudo. Las bolsas se pusieron a peso constante en estufa de aire forzado a 65 °C. Se pesaron y se les agregó de 1 a 2g de muestra, respetando así las recomendaciones por Mehrez y Orskov (1977), Weatley *et al.* (1983) y por Kempton (1980), se anudaron lo mas cerca posible de la entrada de la bolsa con hilo nylon filamentoso, usando nudo triple con doble vuelta (Rivas *et al.*, 1983) y se volvieron a poner a peso constante, colocándose en un desecador hasta el momento de ser pesadas en una balanza analítica. Cada bolsa se amarró con un hilo de nylon filamentoso que sirviera para unirlo al tapón de la

cánula ruminal con una longitud de 25 cm. A cada borrego se le introdujeron 6 bolsas, permitiendo un tiempo de permanencia en el rumen de 0, 3, 6, 12, 24, 48, y 96h de incubación ruminal. El tiempo cero estuvo dado por una bolsa a la que se le realizó únicamente el lavado pos-incubación. Todas las bolsas se sacaron 3 horas después de la introducción de la última bolsa, con el propósito de ser retiradas y lavadas al mismo tiempo (Weakley *et al.*, 1983). La digestibilidad se calculó a partir del peso de la bolsa y la muestra antes de la incubación, menos el peso después de la incubación, dividida entre el peso de la muestra y multiplicada por 100.

$$\text{Digestibilidad de MS, \%} = \frac{\left[\text{Peso de la muestra + bolsa antes de la incubación.} \right] - \left[\text{Peso de la muestra + bolsa después de la incubación} \right]}{\text{Peso de la muestra BS}} \times 100$$

5.10.3. Determinación de la tasa de desaparición de la MS potencialmente digestible (MPD).

Se estimó de acuerdo al procedimiento descrito por Mertens (1987), en donde la pérdida de peso de las bolsitas utilizadas para digestibilidad *in situ*, es usada para calcular la cantidad de digestión ocurrida en el rumen. La tasa de digestión es la regresión del logaritmo natural del porcentaje de digestión de MS con relación al tiempo de digestión en horas y la MS potencialmente digestible es el valor de digestibilidad alcanzado a las 96 horas de incubación.

5.11. Balance de nitrógeno.

El nitrógeno se determinó por la técnica de Kjeldahl descrita por la A.O.A.C. (1990); se efectuó la colección total de orina paralelamente a la de las heces, cada 24 horas a las 8:00 a.m. durante siete días (previa adaptación). Con el fin de evitar la pérdida de constituyentes volátiles, se adicionó al recipiente colector de orina 70 ml. de HCL al 25%. Del volumen total de orina se tomó el 10%, para constituir la muestra total por repetición, manteniéndose en congelación para su determinación posterior de nitrógeno.

En el caso de las heces se les determinó materia seca y nitrógeno. La retención de nitrógeno se determinó por la siguiente formula:

tomando el 10% del peso total para constituir la muestra total por repetición, manteniéndose en congelación para su determinación posterior de nitrógeno.

$$NR = NC - NH - NO$$

Donde:

NR = Nitrógeno retenido; NC = Nitrógeno consumido; NH = Nitrógeno de heces y NO = Nitrógeno de orina.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DEL PASTO SALADO TRATADO Y SIN TRATAR ALCALINAMENTE.

En el Cuadro 1 se presenta la composición química del pasto salado (*Distichlis spicata*) seco, maduro, antes del tratamiento químico. En general las cifras son variables entre si. La proteína cruda es característica de un pasto de baja calidad. Considerando que la cantidad mínima de proteína cruda para mantenimiento de la microflora ruminal es del 7% (Van Soest, 1994), se espera que el contenido de nitrógeno del pasto salado solo cubra los requerimientos de mantenimiento de los borregos. La fibra cruda es baja para ser de heno de un pasto maduro, esta condición sobreestima al ELN. Los datos experimentales coinciden más con los del NRC (1975), que con los de McDowell *et al.* (1974).

Cuadro 1. Composición química del pasto salado (*Distichlis spicata*)

Variables,% MS	Autor		
	1	2	3
Materia Seca (MS)	100	100	100
Materia Orgánica (MO)	87.7	95.5	92.9
Cenizas (C)	12.3	4.5	7.1
Fibra Cruda (FC)	31.2	13.4	37.9
Extracto Etéreo (EE)	2.1	2.7	1.8
Proteína Cruda (N x 6.25)	8.8	10.2	6.7
Extracto Libre de Nitrógeno (ELN)	45.6	69.2	46.5

1.-National Research Council (NRC; 1975)

2.-McDowell *et al.* (1974)

3.-Datos experimentales.

ELN= por diferencia de 100 – los % de humedad, PC, EE, FC y Cenizas.

El Cuadro 2 muestra las fracciones de nitrógeno del heno de pasto salado adicionado con urea (testigo) y tratado con NH₃ e NaOH + urea. Los tratamientos fueron isonitrogenados debido a la adición de urea. El nitrógeno

total y el nitrógeno no proteico no presentaron diferencia entre los tratamientos ($P>0.05$). El nitrógeno total equivale a 13% de proteína cruda. Una característica del pasto salado es su bajo nivel de nitrógeno proteico (Morales y Shimada, 1982). En el pasto tratado con NH_3 , el nitrógeno amoniacal se elevó debido a la adición del amoníaco anhidro durante el procesamiento ($P<0.05$), siendo la fijación en el pasto tratado con NH_3 superior con 0.53 unidades porcentuales de nitrógeno amoniacal en comparación con el tratamiento de NaOH que solo fijo el 0.073 y en el testigo 0.048, esta fijación esta dentro de los rangos de 0.42 a 1.82% que reporta la literatura (Zorrilla-Ríos *et al.*, 1991; Brown, 1993; Soriano *et al.*, 1995). El tratamiento con NH_3 , fomenta la síntesis de proteína verdadera durante el proceso de amoniacación. Esta contribución pudiera ser determinante para hacer mas eficiente el uso del nitrógeno antes de ofrecerlo a los borregos, con impacto favorable en los mismos. En el tratamiento con NaOH, la síntesis de proteína verdadera vía microbiana fue menos eficiente pero igualmente importante (Van Soest, 1994).

Cuadro 2. Contenido de nitrógeno del heno de pasto salado tratado químicamente, %BS.

Variable,%	Sin tratar + urea	Tratado con NH_3	Tratado con NaOH + urea	EEM
Nitrógeno total	2.168	2.184	2.086	0.052
Nitrógeno proteico	0.681 ^{ab}	0.853 ^a	0.254 ^b	0.096
Nitrógeno no proteico	1.487	1.331	1.832	0.126
Nitrógeno amoniacal	0.048 ^b	0.533 ^a	0.073 ^b	0.015

Literales diferentes en el mismo renglón indican diferencia estadística ($P<0.05$).

EEM= error estándar de la media.

La proporción de carbohidratos solubles en general es baja (Cuadro 3), siendo diferentes ($P<0.05$) los tres tratamientos con 5.2% para el testigo, 9.2% para NH_3 y 6.5% para NaOH. El contenido mas alto de carbohidratos solubles en el tratamiento con NH_3 se debe a un mayor contenido celular del pasto salado que resulta de la degradación de la pared celular. En el heno se tiene la ventaja

de que los carbohidratos solubles se preservan, a diferencia de lo que sucede en los ensilajes en donde estos son transformados a otros metabolitos (Juárez, 1989). Esta ventaja permite que la fermentación de los carbohidratos solubles se realicen en el rumen, favorecida por una mayor disponibilidad de nitrógeno proveído por el tratamiento con amonio.

Cuadro 3. Pared celular, contenido celular y carbohidratos solubles del heno de pasto salado, %BS

Variable,%	Sin tratar + urea	Tratado con NH ₃	Tratado con NaOH + urea	EEM
Pared Celular	73.4 ^a	59.8 ^b	65.6 ^{ab}	2.42
Contenido Celular	26.6 ^b	40.2 ^a	34.4 ^{ab}	2.69
CHOS Solubles	5.2 ^c	9.2 ^a	6.6 ^b	0.27

Literales diferentes en el mismo renglón indican diferencia ($P<0.05$).

EEM= error estándar de la media.

Los resultados de las fracciones de fibra se aprecian en el Cuadro 4, se distingue el alto contenido de FDN, siendo de mayor proporción ($P<0.05$) en el pasto con urea (testigo), comparado con el tratamiento con amonio; la FDN disminuyó de 73.4% a 59.8% con el NH₃. Con el NaOH solo disminuyó a 65.6% sin diferencia estadística entre ellos. En la FDA también se encontraron cambios de 37.1% a 33.8% con NH₃ y a 35.2% con NaOH. De acuerdo con lo reportado por otros autores (Zorrilla-Ríos *et al.*, 1991), quienes informan de reducciones en el contenido de FDA; ésta, está relacionada con la solubilización de la lignina y la celulosa, presumiblemente como resultado de un decremento en la cristalinidad de la última. La interrelación química y física entre los constituyentes de la pared celular determinan la disponibilidad de celulosa y hemicelulosa como fuentes de energía para los microorganismos ruminales (Van Soest, 1994). Se conoce que la acción del amoníaco sobre el complejo lignina-celulosa-hemicelulosa produce una saponificación de los enlaces éster de la unión entre lignina y hemicelulosa, provocando flexibilidad de la fibra (Sundstøl y Owen, 1984). Así mismo, se observó que en el

porcentaje de hemicelulosa no se presentó diferencia estadística ($P>0.05$) entre los tratamientos con el testigo. El contenido de cenizas insolubles en ácido es típicamente alta en este pasto con 7.9, 9.7 y 10.3% para el testigo, NH_3 e NaOH , siendo diferentes ($P< 0.05$) los tratados con el testigo por la concentración de éstas debido a la disminución en la proporción de pared celular (Cuadro 4).

Cuadro 4. Fracciones de fibra del heno de pasto salado, %BS

Variable,%	Sin tratar + urea	Tratado con NH_3	Tratado con NaOH + urea	EEM
FDN	73.4 ^a	59.8 ^b	65.6 ^{ab}	2.42
Hemicelulosa	36.3	25.9	30.4	2.72
FDA	37.1 ^a	33.8 ^c	35.2 ^b	0.33
Celulosa	25.8 ^a	23.0 ^c	24.8 ^b	0.20
Lignina	8.3	8.2	7.8	0.24
CIA	7.91 ^b	9.76 ^a	10.35 ^a	0.24

Literales diferentes en el mismo renglón indican diferencia estadística ($P<0.05$).
FDN= fibra detergente neutro, FAD= fibra ácido detergente, CIA= cenizas insolubles en ácido.
EEM= error estándar de la media.

CONSUMO VOLUNTARIO Y DIGESTIBILIDAD DEL PASTO SALADO TRATADO Y SIN TRATAR ALCALINAMENTE

El consumo voluntario promedio (Cuadro 5) fue mayor para el tratamiento con NH_3 ($P<0.05$). El aumento en el consumo de alimento observado pudo deberse por un lado, a la mayor disponibilidad de nitrógeno soluble para los microbios ruminales y a que, el empleo del amonio anhidro ejerció un efecto positivo en la digestibilidad del forraje tratado; y por otro lado al menor contenido de FDN y mayor contenido de carbohidratos solubles. La sinergia de ambos eventos favoreció un mayor consumo voluntario en los borregos, probablemente facilitado por un proceso de distensión ruminal (Van Soest, 1994; Schettini *et al.*, 1999). En ensilajes se ha observado una correlación negativa entre la concentración de amonio y consumo voluntario (Juárez, 1989). Esta respuesta, entre otros factores, se debe a la escasez de carbohidratos solubles ya que estos se transformaron a AGVs durante el proceso de ensilado. Estos, en

rumen se absorben directamente y no necesitan del amonio para metabolizarse. Lo que repercute en un exceso de amonio ocioso en rumen, afectando el consumo voluntario (Sundstøl y Owen, 1984). Con el NaOH, el incremento en el consumo se puede explicar por el efecto del álcali sobre un mayor contenido de carbohidratos solubles, a una mayor capacidad amortiguadora, así como también a una mayor digestibilidad, como en el caso del amonio (Juárez, 1989).

La digestibilidad de MS del pasto salado (Cuadro 5), se mejora significativamente por efecto de los tratamientos alcalinos. La digestibilidad ruminal con NaOH a las 24 y 48h es mayor que la del NH_3 , aunque a las 96h de digestión no hay diferencia entre ambos. La digestibilidad aparente fue diferente entre el testigo con el NH_3 e NaOH, con 38.39, 53.33 y 53.54%. Los tratamientos alcalinos cumplen con la función de favorecer la digestibilidad, en el caso del NH_3 disminuye las paredes celulares, incrementa el contenido celular y aumenta el contenido de nitrógeno. Estas características benefician la digestión de la MS principalmente a nivel de rumen, ya que las paredes celulares están parcialmente digeridas y hay una mayor disponibilidad de nitrógeno para crecimiento microbiano, por lo que es válido suponer que el beneficio logrado por el amonio se puede atribuir a una mayor solubilización de las paredes celulares (Sundstøl y Owen, 1984). Van Soest (1994), ha dado una posible explicación a este fenómeno, proponiendo que al menos tres tipos de ligaduras pueden estar formadas entre lignina y carbohidratos: una débil a la reducción borohídrica, otra álcali débil y una tercera resistente al álcali. El tratamiento con amonio puede romper los primeros dos tipos de ligadura produciendo un incremento en la digestibilidad. El efecto del NaOH y del NH_3 es equivalente, donde la hidrólisis alcalina y la amoniólisis del enlace éster entre la hemicelulosa y cadenas de xilanas y polímeros de lignina producen grupos carboxilo y amino ionizados respectivamente. Esta reacción incrementa el punto de saturación de la fibra (cantidad de agua que la fibra puede aceptar), rompe los enlaces éster entre la lignina y los carbohidratos digestibles y puede incrementar la utilización de la fibra en el rumen por mayor disponibilidad de sustrato para las enzimas apropiadas (Juárez, 1989).

Cuadro 5. Consumo voluntario, digestibilidad aparente *in vivo* y ruminal de MS en borregos Pelibuey consumiendo heno de pasto salado alcalinizado con NH₃ e NaOH + urea.

Variable,%	Sin tratar + urea	Tratado con NH ₃	Tratado con NaOH + urea	EEM
CVMS, kg/día	0.884 ^c	1.481 ^a	1.065 ^b	0.044
Digestibilidad ruminal 24h	17.82 ^c	25.34 ^b	31.50 ^a	0.926
Digestibilidad ruminal 48h	24.75 ^c	38.09 ^b	41.38 ^a	0.76
Digestibilidad ruminal 96h	32.72 ^b	45.54 ^a	47.88 ^a	0.83
Digestibilidad Aparente <i>in vivo</i>	38.39 ^b	53.33 ^a	53.54 ^a	1.22

Literales diferentes en el mismo renglón indican diferencia ($P < 0.05$).

CVMS= consumo voluntario de materia seca., EEM= error estándar de la media.

El balance de nitrógeno se presenta en el Cuadro 6. Se observa que el nitrógeno consumido fue mayor para el tratamiento con NH₃ ($P < 0.05$), esto se debió a un mayor consumo voluntario de MS. El nitrógeno consumido presenta una relación directa con el nitrógeno absorbido, siendo mayor para el NH₃, seguido del NaOH y testigo con 18.12, 13.56 y 10.25 g respectivamente. El nitrógeno retenido muestra notables diferencias. En el grupo testigo el nitrógeno absorbido no se retuvo suficientemente, probablemente por una deficiencia de energía disponible para incorporar el amonio absorbido a cadenas carbonadas y retenerlo en forma de proteína. El amonio tuvo que ser convertido a urea para evitar toxicidad. Esta reacción es energéticamente muy cara ya que requiere de energía endógena para llevarse a cabo. En los rumiantes, la gluconeogénesis es una fuente de energía muy importante y en deficiencia de ácido propiónico, los aminoácidos gluconeogénicos son la principal fuente de glucosa como energía. El resultado es que el nitrógeno no aprovechado mas el amonio subproducto de la desaminación de los

aminoácidos por gluconeogénesis, tienen que ser eliminados por la orina o reciclarse en la saliva, dando un balance negativo con relación al nitrógeno absorbido (Nefzaoui *et al.*, 1993). Otra explicación es que el nitrógeno absorbido no se retuvo por que tuvo deficiencias de aminoácidos esenciales para la síntesis proteica, desde luego pudieron haber ocurrido ambas cosas (Martínez, 2005).

Cuadro 6. Balance de nitrógeno en borregos Pelibuey consumiendo pasto salado alcalinizado con NH₃ e NaOH + urea.

Variable	Sin tratar + urea	Tratado con NH ₃	Tratado con NaOH + urea	EEM
N Consumido, g	17.93 ^b	32.08 ^a	20.31 ^b	1.12
N en heces, g	7.68 ^b	13.96 ^a	6.75 ^b	0.56
N Absorbido, g	10.25 ^c	18.12 ^a	13.56 ^b	0.80
N en orina, g	10.93 ^a	4.58 ^b	4.72 ^b	0.42
N Retenido, g	-0.67 ^c	13.53 ^a	8.88 ^b	0.92
N Retenido, %	-3.89 ^b	41.94 ^a	43.23 ^a	2.73

Literales diferentes en el mismo renglón indican diferencia ($P < 0.05$).

EEM= error estándar de la media.

DINÁMICA RUMINAL DE SÓLIDOS Y LÍQUIDOS

La cinética ruminal de sólidos se resume en el Cuadro 7, el volumen ruminal es significativamente ($P < 0.05$) mayor en los tratamientos con NH₃ e NaOH. Se explica esta diferencia porque hubo un mayor consumo voluntario en ellos, que permitía tener más contenido de MS en el rumen. La dinámica del paso de los sólidos por el rumen en los tratamientos no fue diferente, pero cabe mencionar que en general fue muy lenta. La tasa de pasaje de alrededor del 1 %/h nos indica lenta actividad ruminal. La baja concentración de carbohidratos solubles (menor al 10%, cuadro 3) y la lenta degradación de los carbohidratos estructurales pudieron propiciar esta situación (según el cuadro 5). Un flujo de entre 7 y 10 g/h de MS es indicativo de una lenta tasa de degradación. Considerando que a las 24h la digestibilidad era del 25% (cuadro 5), del volumen ruminal (promedio 868 g, cuadro 7), el material digerido resulta ser de

217 g por día, dividido entre 24h nos da un flujo de 9 g/h. Probablemente, si el error experimental del flujo hubiera sido menos grande, hubiéramos encontrado significancia en la diferencia entre las medias del tratamiento testigo y los alcalinizados. Siendo mayor el flujo con NH₃ e NaOH. La lentitud del proceso digestivo nos da como consecuencia un tiempo medio de retención de la digesta muy alto y un recambio muy bajo. El impacto sobre la síntesis de proteína microbiana debió de haber sido dramático ya que ésta se debió de haber deprimido seriamente. Como consecuencia de esto se observó un balance de nitrógeno negativo en los borregos testigo (cuadro 6). Esta condición aunque no favorable, permitió para efectos de este estudio apreciar mejor la contribución de los tratamientos alcalinos que lograron propiciar un balance de nitrógeno positivo siendo más beneficiados los borregos con el tratamiento de NH₃.

Cuadro 7. Cinética ruminal de sólidos en borregos Pelibuey alimentados con heno de pasto salado tratado con NH₃ e NaOH + urea

Variable	Sin tratar + urea	Tratado con NH ₃	Tratado con NaOH + urea	EEM
Volumen, g	771.71 ^b	864.85 ^a	872.06 ^a	21.50
Tiempo medio, h	92.27	77.98	88.15	16.93
Flujo, g/h	7.45	10.16	9.62	1.45
Recambio 24h, %	29	27	27	4.00
Tasa de pasaje, %/h	0.94	1.15	1.11	0.15

Literales diferentes en el mismo renglón indican diferencia ($P < 0.05$).

EEM= error estándar de la media.

La dinámica ruminal de la fracción líquida es sensible a la influencia de los tratamientos alcalinos. En el Cuadro 8, se observa que el tratamiento testigo (urea) tiene un comportamiento diferente ($P < 0.05$) en todas las variables, comparado con los tratados con NH₃ e NaOH. Estos promueven un menor tiempo de retención y una mayor tasa de recambio debido a un mayor consumo de agua (Juárez, 1989). En los rumiantes es difícil explicar la dinámica ruminal

de líquidos, si no se tiene información de consumo de agua y consumo de sodio, variables que no se midieron en este estudio. Sin embargo, Jacques *et al.* (1986), midió estas variables en borregos consumiendo ensilaje de caña de azúcar alcalinizados encontrando que el consumo de agua afecta la cinética ruminal de líquidos.

Cuadro 8. Cinética ruminal de líquidos en borregos Pelibuey alimentados con heno de pasto salado tratado con NH₃ e NaOH + urea

Variable	Sin tratar + urea	Tratado con NH ₃	Tratado con NaOH + urea	EEM
Volumen, L	5.63 ^b	6.50 ^a	6.83 ^a	0.23
Tiempo medio, h	13.21 ^a	9.96 ^b	9.78 ^b	0.69
Flujo, L/h	0.23 ^b	0.45 ^a	0.48 ^a	0.02
Recambio 24h, %	127 ^b	169 ^a	171 ^a	9.00
Tasa de pasaje, %/h	5.29 ^b	7.05 ^a	7.10 ^a	0.37

Literales diferentes en el mismo renglón indican diferencia ($P < 0.05$).

EEM= error estándar de la media.

FERMENTACIÓN RUMINAL

En el Cuadro 9 se resume la producción general de ácidos grasos volátiles (AGV's) en el líquido ruminal de los borregos consumiendo el pasto salado. La producción total de AGV's se considera muy baja, comparada con la obtenida por Juárez (1989), en borregos Pelibuey con ensilaje de caña de azúcar alcalinizada, siendo la concentración de AGV's de mas de 300 mg/100ml con una pobre producción y proporción de ácido propiónico, debido principalmente a la escasa disponibilidad de carbohidratos solubles. El hecho de haber adicionado NNP al heno, implicaba desde el punto de vista nutricional haber agregado también carbohidratos solubles como por ejemplo melaza para la oportuna utilización del nitrógeno por las bacterias del rumen y favorecer una mayor producción de AGV's y una mayor proporción de ácido propiónico (Royes *et al.*, 1995). Sin embargo, por motivos experimentales en este estudio no se hizo, aunque desde el punto de vista práctico es recomendable.

Cuadro 9. Producción promedio de ácidos grasos volátiles en rumen de borregos consumiendo heno de pasto salado

Ácidos Grasos Volátiles	Producción	EEM
Total, mg/100 ml	104	6.57
Acético, mg/100 ml	84	5.40
Propiónico, mg/100 ml	14	0.91
Butírico, mg/100 ml	6	0.41
Acético, % molar	80	0.46
Propiónico, % molar	13	0.29
Butírico, % molar	6	0.32

EEM= error estándar de la media.

Al describir el patrón de fermentación ruminal por tratamiento (Cuadro 10), se detecta un detalle muy importante en la producción de ácido butírico. Éste, se incrementa ($P<0.05$) en los tratamientos con amonio e hidróxido de sodio. Es probable que la diferencia se deba a un efecto de pH. En estos últimos, por el efecto alcalinizante de los químicos se pudo haber incrementado el pH ruminal propiciando mayor producción de ácido butírico (Juárez, 1989).

Cuadro 10. Producción promedio de ácidos grasos volátiles en rumen de borregos consumiendo heno de pasto salado tratado químicamente

Ácidos Grasos Volátiles	Sin tratar + urea	Tratado con NH_3	Tratado con NaOH + urea	EEM
Total, mg/100 ml	87	104	97	7.13
Acético, mg/100 ml	70	84	78	6.02
Propiónico, mg/100 ml	12	13	13	1.09
Butírico, mg/100 ml	4 ^b	7 ^a	6 ^a	0.77
Acético, % molar	81	80	81	1.16
Propiónico, % molar	14	13	13	0.71
Butírico, % molar	5	7	6	0.85

Literales diferentes en el mismo renglón indican diferencia ($P<0.05$).

EEM= error estándar de la media.

La dinámica de concentración de AGV's se describe en el Cuadro 11. Durante las primeras 6 horas después del consumo, la producción total de AGV's es muy pobre como reflejo de la escasez de carbohidratos solubles. Pero, a las 12 horas, se aprecia un incremento sustancial en la producción de AGV's como consecuencia de la fermentación de los carbohidratos estructurales contenidos en la fibra del pasto. Sin embargo, este nivel de producción de AGV's no es sostenido ya que a las 24 horas, cae la concentración nuevamente a niveles bajos por agotamiento y falta de sincronización entre los aportes de nitrógeno y energía. Es decir, aunque haya fibra fermentable, la población microbiana ya no puede disponer de NNP para crecer por agotamiento de éste a nivel ruminal.

Cuadro 11. Concentración de ácidos grasos volátiles en rumen de borregos consumiendo heno de pasto salado

Ácidos Grasos Volátiles	1.5h	3h	6h	12h	24h	EEM
Total, mg/100 ml	58 ^c	71 ^b	78 ^b	187 ^a	85 ^b	6.72
Acético, mg/100 ml	46 ^c	59 ^b	65 ^b	151 ^a	67 ^b	5.66
Propiónico, mg/100 ml	9 ^b	8 ^b	9 ^b	26 ^a	12 ^b	1.02
Butírico, mg/100 ml	4 ^b	4 ^b	4 ^b	10 ^a	6 ^b	0.80
Acético, % molar	79 ^b	83 ^a	83 ^a	80 ^{ab}	79 ^b	1.18
Propiónico, % molar	15 ^a	12 ^b	12 ^b	14 ^{ab}	14 ^{ab}	0.70
Butírico, % molar	6	6	5	6	7	0.88

Literales diferentes en el mismo renglón indican diferencia ($P < 0.05$).

EEM= error estándar de la media.

Para explicar lo que está sucediendo, se puede suponer que durante las primeras 6 horas, hay disponibilidad de NNP a nivel ruminal, pero no hay suficientes carbohidratos solubles para utilizarlo por los microorganismos por lo que la producción de AGV's es muy lenta. A las 12 horas es cuando empieza a haber disponibilidad de carbohidratos estructurales y con el NNP presente en el rumen ya sea vía consumo o reciclaje, la fermentación se activa con mayor producción de AGV's, siendo el ácido acético el más importante. Después de

esta fase, a las 24 horas, cae la producción de AGV's como consecuencia del agotamiento de la poza de nitrógeno y los microorganismos ya no son capaces de mantener el ritmo de la fermentación, aunque haya carbohidratos disponibles. La lenta tasa de pasaje, la alta proporción de ácido acético y el pH relativamente alto en el rumen favorecen la interconversión de acético a butírico ocasionando una alza en la proporción de este último (Shimada, 2003).

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

7. CONCLUSIONES

Los aditivos químicos empleados en el presente estudio mejoran significativamente la calidad nutritiva del pasto salado (*Distichlis spicata*), considerando su bajo contenido de proteína cruda de 6.7%. El tratamiento con NH_3 solubiliza en un 19% la FDN y en un 9% la FDA haciendo que los carbohidratos estructurales sean disponibles en un 77% en el caso del NH_3 y un 27% para NaOH, para la digestión o el crecimiento microbiano. La digestibilidad aparente de MS se mejora en un 39% con los aditivos. Aunque la digestibilidad en las primeras 48h es mayor con el tratamiento de NaOH, sin embargo, a las 96h no existe diferencia entre aditivos. El consumo voluntario, además de favorecer una mayor ingestión de nitrógeno en 67% y 20% para NH_3 e NaOH, respectivamente, incrementa su retención. La cinética ruminal se modifica por efecto de los álcalis al favorecer un menor tiempo de retención y mayor tasa de recambio de líquidos, así, un mayor volumen ruminal de sólidos en los borregos. La producción de AGV's en mg/100 mL es baja, con pico de producción a las 12 horas y caracterizada por mínima producción de ácido propiónico.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Agricultural and Food Research Council (AFRC), 1991. Technical committee on Responses to Nutrients. Voluntary intake of cattle. Report no. 8. Nutr. Abstr. Rev. (Series B) 61:815-823.
- Akin, D.E. 1989. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. Agron. J. 81:17-25.
- A.O.A.C. 1990. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 15th ed., Washington, D.C.
- Arthur, D. 1970. The determination of chromium in animal feed and excreta by atomic absorption spectrophotometry. Cand. Spectroscopy 15:1.
- Baile, C.A., Forbes, J.M. 1974. Control of feed intake and regulation of energy balance in ruminants” Physiological. Reviews., 54:160-214.
- Bohnert, D.W., Schauer, C.S., Bauer, M.L., Del Curto, T. 2002. Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on steers consuming low-quality forage: I. Site of digestion and microbial efficiency. J. Anim. Sci. 80: 2967-2977.
- Bolsen, K.K., Tetlow, R.M., Wilson, R.F. 1983. The effect of calcium and sodium acrylate on the fermentation and digestibility of ensiled whole-crop wheat and barley. Anim. Feed. Sci. Technol.
- Bourquin, L.D., Titgemeyer, E.C., Merchen, N.R., Fahey, G.C., Jr. 1994. Forage level and particle size effects on orchardgrass digestion by steers: I. Site and extent of organic matter, nitrogen, and cell wall digestion. J. Anim. Sci., 72: 746 - 758

- Brown, W.F. 1993. Cane molasses and cottonseed meal supplementation of ammoniated tropical grass hay for yearling cattle. *J. Anim. Sci.* Vol. 71, 12: 3451-3457.
- Buxton, D. R., Fales, S.L. 1994. Plant environment and quality. Forage Quality, Evaluation, and Utilization. Fahey, Jr. G. C. Based on the National Conference on Forage Quality, Evaluation, and Utilization held at the University of Nebraska, Lincoln. pp. 155-199.
- Cherney, D.J., Siciliano-Jones, J., Pell, A.N. 1993. Technical note: forage in vitro dry matter digestibility as influenced by fiber source in the donor cow diet. *J Anim Sci*, May 1993; 71: 1335 - 1338.
- Chesson, A. 1993. Mechanistic models of forage cell wall degradation. In: Forage Cell Wall Structure and Digestibility. Jung, H.G., Buxton, D.R., Hatfield, R.D., Ralph, J. eds. American Society of Agronomy. Madison, Wisc. pp. 347-376.
- COTECOCA. 1998. Comisión Técnica Consultiva para la Determinación del Coeficiente de Agostadero. Vegetación de México.
- Cottyn, B.G., Boucque, CH.V. 1986b. Rapid method for the gas chromatographic determination of volatil fatty acids. *J. Agric. Food Chem.* 16:105.
- Coughlan, M.P. 1991. Mechanisms of cellulose degradation by fungi and bacteria. *Anim. Feed Sci. Technol.* 32:77-100.
- Dubois, M. Gilles, K.A., Hamilton, J.K. Rebers, P.A. Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Annal. Chem.* 28:350.

- Enríquez, Q. J. F., Meléndez, N. F., Bolaños, E. A. 1999. Tecnología para la producción y manejo de forrajes tropicales en México. INIFAP. CIRGOC. Campo Experimental Papaloapan. Libro Técnico Núm. 7. Veracruz, México. 262 p.

- Ferreiro, H.M. 1990. Técnicas utilizadas para medir la cinética de líquidos y sólidos en el tubo gastrointestinal. In: Manual de Técnicas de Investigación en Rumiología. Castellanos, R.A., Llamas, L. G., Shimada, M. A. Sistema de Educación Continua en Producción Animal en México, A.C. pp. 71- 91.

- Flipot, P., Mowat, D.N., Parkins, J.J., Buchanan-Smith, J.G. 1976. Ensiling characteristics of silage treated with sodium hydroxide. Can. J. Plant. Sci. 56:935-940.

- Fontaine, A.S., Bout, S., Barriere, Y., Vermerris, W. 2003. Variation in cell wall composition among forage maize (*Zea mays* L.) inbred lines and its impact on digestibility: analysis of neutral detergent fiber composition by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. J. Agric. Food Chem., 51(27): 8080-8087.

- Forbes, J.M. 1986. The Voluntary Food Intake of Farm Animal. Burtterworths, London.

- Fry, S.C. 2004. The Plant Cell Wall. Rose JKC, ed. Oxford: CBC Press. 99.50 (hardback). 381 pp. Ann. Bot. 94:645.

- Galyean, M.L., Goetsch, A. L. 1993. Utilization of forage fiber by ruminants. Pp. 33 – 71 In: Forage cell wall structure and digestibility, Jung, H.G., Buxton, D.R., Hatfield, R.D., Ralph, J., Madison, eds. Wis: ASA-CSSA-SSSA.

- Gibeaut, D.M., Carpita, N.C. 1994. Biosynthesis of plant cell wall polysaccharides. *FASEB J.*, 8: 904 - 915.
- Haddad, S.G., Grant, R.J., Klopfenstein, T.J. 1994. Digestibility of alkali-treated wheat straw measured in vitro or in vivo using Holstein heifers. *J. Anim. Sci.* 72 (12): 3258-3265.
- Hecker, J.F. 1969. A Simple rapid method for inserting rumen cannulae in sheep. *J. Aust. Vet.* 45 (6): 293-294.
- Hespell, R.B., Whitehead, T.R., 1990. Physiology and genetics of xylan degradation by gastrointestinal tract bacteria. *J. Dairy Sci.*, 73: 3013 - 3022.
- Jackson, M.G. 1978. Treating straw for animal feeding. FAO. Animal Production and Health Paper 10 Rome.
- Jacques, K.A. , Axe, D.E., Harries, T.R. Harmon, D.L., Bolsen, K.K. Johnson, D.E. 1986. Effect of sodium bicarbonate and sodium bentonite on digestion, solid and liquid flow, and ruminal fermentation characteristics of forage sorghum silage-based diets fed to steers. *J. Anim. Sci.* 63: 923-932.
- Juárez, L.F.I. 1989. Efecto del hidróxido de sodio sobre la fermentación, cinética y digestión ruminal en borregos consumiendo ensilaje de caña de azucar. Tesis maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Juárez, L.F.I., Fox, D.G., Bake, R.W., Pell, A.N. 1999. Evaluation of tropical grasses for milk production by dual-purpose cows in tropical Mexico. *J. Dairy Sci.* 82:2136-2145

- Jung, H. G., Allen, M.S. 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. J. Anim. Sci., 73: 2774 - 2790.
- Jung, H.G., Deetz D.A. 1993. Cell wall lignification and degradability. In: Forage Cell Wall Structure and Digestibility. Jung, H.G., Buxton, D.R., Hatfield, R.D., Ralph, J. eds. American Society of Agronomy, Madison, Wisc. pp. 315-346.
- Kellaway R.C. 1980. Recent Advances in Animal Nutrition. The Univ. Of New England Publishing Unit, Armidale, Australia.10.
- Kempton, T.J. 1980. El uso de las bolsas de nylon para caracterizar el potencial de degradabilidad de alimentos por el rumiante. Prod. Anim. Tropic. 5: 115-126.
- Kennedy, P.M., Cristopherson, R.J., Milligan, L.P. 1986. Digestive responses to cold. pp. 285-306. In: Control of Digestion and metabolism in ruminants, Milligan, L.P., Grovumm, W.L., Dobson , A., eds. Englewood Cliffs, N.J. Prentice- Hall.
- Kuehl, R.O. 1994. Statistical principles of research design and analysis. Internacional Thompson Publishing. Duxbury Press. A division of Wadsworth, Inc. Belmont, California. USA.
- Linares, O.J.P. 1986. Evaluación de la paja de pasto salado (*Distichlis spicata*) tratado con amonio en la engorda de bovinos. Tesis licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

- Liu, J.X., Susenbeth, A., Sudekum, K.H. 2002. In vitro gas production measurements to evaluate interactions between untreated and chemically treated rice straws, grass hay, and mulberry leaves. *J. Anim. Sci.* 80 (2): 517-524.
- Llamas-Lamas, G., Combs, D.K. 1990. Effects of environmental temperature and ammoniation on utilization of straw by sheep. *J. Anim. Sci.* 68 (6): 1719-1725.
- Lyman, C.M., Chang, W.Y., Couch, J.R. 1953. Evaluation of protein in cotton seed meals by chick growth and by a chemical index method. *J. Nutr.*, 49: 679.
- Mabweesh, S.J., Cohen, M., Arieli, A. 2000. In vitro methods for measuring the dry matter digestibility of ruminant feedstuffs: comparison of methods and inoculum source. *J. Dairy Sci.* 83: 2289-2294.
- Mallawer, J.S., Powell, W.D. 1967. An improved turbidimetric analysis of polyethyleneglycol utilizing an emulsifier. *Gastroenterology.* 53 (2):250.
- Martínez, R.L. 2005. Comunicación personal.
- Mason, V.C., Cook J.E., Dhanoa M.S., Keene A.S., Hoadley C.J., Hartley R.D. 1990. Chemical composition digestibility in vitro and biodegradability of grass hays oven-treated with different amounts of ammonia. *Anim. Feed Sci. Technol.* 29:237-249.
- McCann, M.C., Bush, M., Milioni, D., Sado, P., Stacey, N.J., Catchpole, G., Defernez, M., Carpita, N.C., Hofte, H., Ulvskov, P., Wilson, R.H., Roberts, K. 2001. Approaches to understanding the functional architecture of the plant cell wall. *Phytochemistry*, 57(6): 811-21.

- McDowel, L.R., Conrad, J.H., Thomas, J.E., Harris, L.E. 1974. Latin America tables of feed composition. Universidad de Florida, Gainesville, Flo., U.S.A. pp 174.
- Mehrez, A., Ørskov. E.R. 1977. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. J. Of . Agric. Sci. Cambridge. 88:645-650.
- Mellinil, B.E., Quintanilla, N.A. 1979. Valor nutritivo del zacate salado (*Distichlis spicata*, L. Greene), producido en el ex - Lago de Texcoco. Tesis Licenciatura Universidad Autónoma de Chapingo. Texcoco, México. México, D.F: 80.
- Mertens, D.R. 1987. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. J.Anim. Sci., 64:1548-1558.
- Mertens, D.R. Ely, L.O. 1979. A dynamic model of fiber digestion and passage in the ruminant for evaluating forage quality. J. Anim. Sci., 49 (4): 1085.
- Mertens, D.R. Ely, L.O. 1982. Relationship of rate and extent of digestión to forage utilization. A. dynamic model evaluation. J. Anim Sci., 54: 895.
- Mertens, D.R. Loften, J.R. 1980. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics in vitro. J. Dairy Sci. 63: 1437-1446.
- Messman, M.A., Weiss, W.P., Erickson, D.O. 1991. effects of nitrogen fertilization and maturity of bromegrass on in situ ruminal digestion kinetics of fiber. J. Anim. Sci. 69 (3): 1151-1161.

- Morales J.A., Shimada M.A. 1982. Digestibilidad del pasto salado (*Distichlis spicata*) para borregos. *Técnica Pecuaria en México*. 42: 70-73.
- Morrison 3rd, W.H., Himmelsbach, D.S., Akin, D.E., Evans, J.D. 2003. Chemical and spectroscopic analysis of lignin in isolated flax fibers. *J. Agric. Food Chem.*, 51(9): 2565-8.
- Nefzaoui, A., Rokbani, N., Chermiti, A. 1993. Ammonia and urea treatment of straw. 1. Treatment and chopping effect on digestibility of the diets and nitrogen retention by sheep. *Annals de l'Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie*. 66: 1-2, 185-200.
- N.R.C. 1975. Nutrient Requirements of Sheep. National Research Council. National Academy of Sciences. 5th ed. Washington, D.C.
- Ortiz, O.G., 1988. Manipulación de la fermentación en forrajes tropicales, pasto merkerón (*Pennisetum purpureum*). Tesis maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Pell, A.N., Schofield, P. 1993. Computerized Monitoring of Gas Production to Measure Forage Digestion In Vitro *J. Dairy Sci.*, 76: 1063 - 1073.
- Rafiq, M., Dixon, R.M., Hosking, B.J., Egan, A.R. 2002. Leaf content of straw diets influences supplementation responses by sheep. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 100: 93-106.
- Ramirez, R.G., Kiesling, H.E., Galyean, M.L., Miller, D.D., 1986. Influence of pecan shells and hulls as a roughage source on milk production, rumen fermentation, and digestion in ruminants. *J Dairy Sci*, 69 (5): 1355-65.

- Reed, J.D., McDowell, R.E., Van Soest, P.J., Horvath, P.J. 1982. Condensed tannins: a factor limiting the use of cassava forage. *J. Sci. Food Agric.* 33:213-220.
- Rees, M.C., Minson, D.J. 1976. Fertilizer calcium as a factor affecting the voluntary intake, digestibility and retention time of Pangola grass (*Digitaria decumbens*) by sheep. *Br. J. Nutr.*, 36 (2): 179-87.
- Rivas, G.A., Pérez D.M., Vázquez P. 1983. Efecto de la dieta y del tiempo de incubación sobre la digestibilidad *In situ* del pasto estrella de África. Reunión Nacional de Investigación Pecuaria en México. 737-741.
- Roberts, K. 1990. Structures at the plant cell surface. *Curr. Opin Cell. Biol.*, 2 (5): 920-928
- Rodríguez, G.F. 1980. Determinación de la digestibilidad *in vivo* y balance de nutrientes. Manual de técnicas de Investigación en Nutrición de Rumiantes. INIP-SARH: 88.
- Royes, J.B., Brown, W.F., Martín, F.G., Bates, D.B. 1995. Source and level of energy supplementation for yearling cattle and ammoniated hay. *J. Anim. Sci.* 73 (6): 1793-1802.
- Rzedowski, J., Rzedowski, G.C. 1979. Flora fanerogámica del valle de México. Vol. 1. CECSA, México. pp. 53.
- Salisbury, F. B., Ross, C.W. 1992. *Plant Physiology* (fourth ed.). Wadsworth Publishing Co. Belmont, California.

- Schettini, M.A., Prigge, E.C., Nestor, E.L. 1999. Influence of mass and volume of ruminal contents on voluntary intake and digesta passage of a forage diet in steers. J. Anim. Sci. 77 (7):1896-1904.
- Schultz, T.A., Ralston, A.T., Schultz, E. 1974. Effect of various additives of Ryegrass straw silage. I. Laboratory silo and in vitro dry matter digestion observations. J. Anim. Sci. 39:920-925.
- Shimada, M.A. 2003. Nutrición Animal. 1ra, Ed. Trillas
- Smith, G.S., Nelson, A.B., Bogino, E.J. 1971. Digestibility of forages in vitro as affected by content of "silica". J. Anim. Sci., 33 (2): 466-471.
- Soriano, T.J., Martínez, A.A., Shimada, M.A. 1995. Tratamiento de heno de pasto salado (*Distichlis spicata*) con amonio anhidro para borregos pelibuey en crecimiento. Tec. Pec. Mex. 33 (1):43-47.
- Stern, M.D., Bach, A., Calsamiglia, S. 1997. Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. J. Anim. Sci. 75 (8): 2256-2276.
- Sundstøl, F., Coxworth, M.E. 1984. Ammonia treatment. In: Straw and Other Fibrous By-Products as Feed. Sundstøl F., Owen E. (Eds.) Elsevier Science Publisher, B.V. Chapter 7. p.238-239.
- Sundstøl, F., Coxworth, M.E., Mowat D.N. 1978. Improving the nutritive value of straw and other low quality roughages by treatment with ammonia. World Anim. Rev. (FAO); 26: 13-21.
- Sundstøl, F., Owen, E. 1984. Straw and Other Fibrous By-Products as Feed. Developments in animal and veterinary sciences; 14. Elsevier Science Publishing Company Inc. New York. N.Y.

- Tejada, H.I. 1985. Manual de laboratorio para análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal. Patronato de Apoyo a la Investigación y Experimentación Pecuaria en México, A.C.
- Tilley, J.M., Terry R.A. 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. J. Brit. Grassl. Soc. 18:104.
- Uden, P., Colucci, E.P., Van Soest, J.P. 1980. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. J. Sci. Food Agric. 31: 625-632.
- Van Milgen, J. 1992. Models describing ruminal *in situ* digestion as affected by the lag process and fractionation of substrate. tesis doctoral. Urbana-Champaign, Illinois, US. University of Illinois.
- Van Soest, P.J. 1963. Ruminant fat metabolism with particular reference to factors affecting low milk fat and feed efficiency. A review. J. Dairy Sci. 46:204-216.
- Van Soest, P.J. 1966. Forage intake in relation to chemical composition and digestibility: some new concepts. Proc. 23d Southern Pasture and Forage Crop Improvement Conf., Blacksburg, Va. Pp. 24-36.
- Van Soest, P.J. 1993. Physicochemical properties of fiber. In: Fibers. Csomis, G., Kusche, J., Meryn, S. eds. Springer Verlag, Berlin. Pp. 22-38.
- Van Soest, P.J. 1994. Forage evaluation techniques. Nutritional Ecology of the Ruminant. Cornell University. Second edition. Comstock publishing associates Cornell University Press.

- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition J Dairy Sci, 74: 3583 - 3597.
- Van Soest, P.J. Wine, H.R. 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. Determination of plant cell-wall constituents J. Assoc. Of Anal. Chem. 50:50.
- Van Soest, P.J. Wine, R.H. 1968. Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 51:780-785.
- Waldo, D.R., Smith, L.W., Cox, E.L. 1972. Model of cellulose disappearance from the rumen. J. Dairy Sci., 55: 125-132.
- Weakley, D.C., Stern, M.D., Stter, L.D. 1983. Factors from bag suspended in the rumen. J. Anim. Sci. 56 (2): 493-507.
- Wilkinson, J.M., González-Santillana, R. 1978^a. Ensiled alkali treated straw. I. Effect of level and type of alkali in the composition and digestibility in vitro of ensiled barley straw. Anim. Feed. Sci. Technol. 3:117-132.
- Wilkinson, J.M., González-Santillana, R. 1978^b. Ensiled alkali treated straw. II. The nutritive value for young beef cattle of mixtures of ensiled or frozen alkali-treated straw and Ryegrass silage. Anim. Feed. Sci. Technol. 3:133-142.

- Yassin-el, F.A., Fontenot, J.P., Chester-Jones, H. 1991. Fermentation characteristics and nutritional value of ruminal contents and blood ensiled with untreated or sodium hydroxide-treated wheat straw. *J. Anim. Sci.* 69 (4):1751-1759.

- Zorrilla- Ríos, J., Horn, G.W., McNew, R.W. 1991. Nutritive value of ammoniated wheat straw fed to cattle. *J. Anim. Sci.* 69 (1): 283-294.