



11662  
UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES "CUAUTITLAN"

**EFFECTO DE LA ADICION DE NaOH  
SOBRE EL VALOR NUTRITIVO  
DE LA CAÑA DE AZUCAR ENSILADA**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRO EN CIENCIAS**  
ESPECIALIDAD EN NUTRICION ANIMAL  
PRESENTA  
**ELISEO ALCANTARA SANCHEZ**

Asesores: Ph. D. Robert Elliott.

Ph. D. Armando S. Shimada

2002

México, D. F.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

Como una modesta muestra de agradecimiento a quienes realmente hicieron posible mi -- educación y la realización de esta tesis;-- los campesinos y obreros de mi Patria.

Como un recuerdo a las mujeres y hombres -- que han caído en la lucha por la libera-- ción de los pueblos y a los que siguen em-- peñados en la drámatica y difícil tarea de conquistar para los oprimidos los derechos más elementales, su muerte, su lucha, no -- son inútiles; la victoria será de los ex-- plotados, pues en ellos está la vida, con ellos la fuerza del número, la fuerza de -- la masa, la fuerza de las inagotables fuen-- tes de todo lo abnegado, idealista, honesto...

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

A Mis Padres

Mis padres no pudieron ser estudiantes de  
letras

Saber quien era andré breton  
sentirse hermanos de lautréamont  
dominar el estructuralismo  
o cosa parecida

Mis Padres

Solo pudieron leer  
el humo de las fábricas  
las necesidades no satisfechas  
los maizales, el sudor que  
dejaron entre la lluvia,  
los pájaros, las mañanas, el viento

Mi Padre Obrero

Venderse vivo a las sociedades anónimas  
no poder dormir y tener un pantalón  
y ochenta kilos de amargura.

J.Q.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Deseo manifestar mi más sincero reconocimiento al Dr. Fernando Perez Gil Romo, Jefe del Departamento de Producción Animal del I.N.N., al Dr. Raúl Godoy Montañez, Jefe del Departamento de Nutrición de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Autónoma de Yucatán, por todo el apoyo técnico y material brindado para la realización del presente trabajo.

De la misma manera agradezco la valiosa colaboración y el apoyo moral de todos mis compañeros y amigos, en forma muy especial a la I.B.Q. Aracely Aguilera B., al Q. Raúl Reyes, al M.V.Z. Guillermo Ríos y a la Srita. María Luisa García G.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## INDICE GENERAL

Capítulo	Página
I RESUMEN	1
II INTRODUCCION	2
III REVISION DE LITERATURA	
III.1 CONSUMO VOLUNTARIO	9
III.2 EMPLEO DE CANULAS EN INVESTIGACIONES SOBRE FISIOLOGIA RUMINAL	16
III.3 USO DE MARCADORES	18
III.4 ENSILAJE	21
III.5 METODOS PARA DETERMINAR LA EFICIENCIA DE LA PROTEINA MICROBIANA.	26
III.6 USO DE NITROGENO NO PROTEINICO EN ALIMENTACION DE RUMIANTES.	32
IV OBJETIVOS	42
V MATERIAL Y METODOS	43
VI RESULTADOS	59
VII DISCUSION	74
VIII CONCLUSIONES	86
IX LITERATURA CITADA	88

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## I N D I C E D E C U A D R O S

C u a d r o No.	P á g i n a
I. COMPOSICION DE LA CAÑA DE AZUCAR A LOS 8 Y 16 MESES DE EDAD.	5
II. COMPOSICION Y DIGESTIBILIDAD DE LA PUNTA Y TALLO DE LA CAÑA DE AZUCAR.	7
III. COMPOSICION QUIMICA (%) DE LA CAÑA DE AZUCAR A 0 Y 30 DIAS DESPUES DE HABER SIDO ENSILADA CON Y SIN NaOH.	60
IV. CARACTERISTICAS QUIMICAS DE LA FERMENIACION DE LA CAÑA DE AZUCAR ENSILADA CON Y SIN NaOH.	62
V. CONSUMO VOLUNTARIO Y DIGESTIBILIDAD DE LA CAÑA FRESCA Y ENSILADA CON Y SIN NaOH.	66
VI. PARAMETROS DE FERMENIACION RUMINAL EN BORREGOS ALIMENTADOS CON CAÑA DE AZUCAR FRESCA Y CAÑA DE AZUCAR ENSILADA CON Y SIN NaOH.	68
VII. CINETICA DEL LIQUIDO RUMINAL EN BORREGOS ALIMENTADOS CON CAÑA DE AZUCAR FRESCA Y ENSILADA CON Y SIN NaOH.	71
VIII. FLUJO DE MATERIA ORGANICA, NITROGENO TOTAL Y NITROGENO MICROBIANO A TRAVES DEL DUODENO DE BORREGOS ALIMENTADOS CON CAÑA DE AZUCAR FRESCA Y ENSILADA CON Y SIN NaOH.	73

## INDICE DE GRAFICAS

Gráfica No.		Página
1.	CONCENTRACION (%) DE AZUCARES SOLUBLES EN LOS ENSILAJES DE CAÑA DE AZUCAR CON Y SIN NaOH.	63
2.	°BRIX Y pH DEL ENSILAJE DE CAÑA DE AZUCAR CON Y SIN NaOH.	64
3.	CONCENTRACION DE ACIDO LACTICO Y ETANOL EN LOS ENSILAJES.	65
4.	PRODUCCION DE ACIDO ACETICO, - PROPIONICO Y BUTIRICO EN EL RUMEN DE BORREGOS ALIMENTADOS -- CON CAÑA DE AZUCAR FRESCA, CAÑA ENSILADA CON NaOH y CAÑA EN SILADA SIN ADITIVO.	69
5.	CONCENTRACION DE AMONIACO RUMINAL EN BORREGOS ALIMENTADOS -- CON CAÑA DE AZUCAR FRESCA Y EN SILADA SUPLEMENTADA CON UREA.	70



## I N D I C E D E F I G U R A S

Figura No.	Página
1. FACIORES QUE INIERVIENEN EN LA REGULACION DEL CON- SUMO VOLUNIARIO.	10
2. PRINCIPALES RUIAS MEIABO- LICAS DEL AZUFRE EN EL - RUMEN.	30
3. DIGESIION Y MEIABOLISMO DEL NIROGENO EN EL RU- MIANIE.	33

... 1

"EFECTO DE LA ADICION DE NaOH SOBRE EL VALOR  
NUTRITIVO DE LA CAÑA DE AZUCAR ENSILADA"

La presente investigación se efectuó con el objeto de evaluar el efecto del NaOH sobre el valor nutritivo de la caña de azúcar en silada. Se emplearon seis borregos Tabasco fistulados a nivel del rumen y duodeno, distribuyéndose en dos cuadrados latinos 3 x 3. Las dietas estudiadas fueron las siguientes: A) Caña de azúcar fresca, B) Caña de azúcar ensilada con 3% de NaOH en base a materia seca, C) Caña de azúcar ensilada sin aditivo. Dependiendo del tratamiento experimental cada borrego recibió diariamente 3 kg de alimento más 30 g de urea y 6.2 g de sulfato de sodio. Para determinar parámetros de cinética ruminal se usaron como marcadores; polietilenglicol y Cr-EDTA. De la misma manera, para estimar la tasa de síntesis de proteína microbiana, la poza de sulfuro del contenido ruminal fue marcada con  $^{35}\text{S}$ . La duración de cada período experimental fue de 22 días, los resultados fueron sometidos a análisis de variancia, las medias fueron comparadas mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de  $P \leq 0.05$ . El consumo voluntario ( $P \text{ kg }^{0.75}$ ) del ensilado tratado con sosa fue superior (609.7 g  $P \leq 0.05$ ), no sólo al ensilado sin aditivo (401.8 g), sino incluso a la caña fresca (506.2 g), esto a pesar de que como es bien sabido, el consumo voluntario de los ensilados es menor al de los forrajes verdes. Los valores obtenidos para nitrógeno total y nitrógeno microbiano (g/24h), fueron similares ( $P > 0.05$ ), para las dietas basadas en caña fresca (12.8 g) y las dietas basadas en caña ensilada con NaOH (12.6 g), siendo estos dos tratamientos superiores ( $P \leq 0.05$ ) a la caña ensilada sin aditivo (9.14 g). En lo que se refiere a la eficiencia de síntesis de proteína microbiana (g/100g MOD), se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tres tratamientos, siendo mejor en los borregos alimentados con caña fresca (21.2g) que en los animales alimentados con los ensilados y entre los ensilados, los mejores índices de síntesis de proteína microbiana correspondieron a los animales alimentados con ensilado tratado con NaOH (17.9g). Pese a que la eficiencia de síntesis de proteína microbiana en los animales que recibieron ensilado tratado con NaOH fue menor ( $P \leq 0.05$ ) al tratamiento de caña fresca, al relacionarse con el flujo de nitrógeno microbiano total, tiende a igualarse al encontrado en los animales alimentados con caña fresca. Estos resultados se deben a que en un sistema anaerobio de cultivo como es el rumen, el principal limitante del crecimiento microbiano es la energía. El efecto positivo del NaOH se refleja al solubilizar las paredes celulares, limitar la fermentación alcohólica (0.22 g/%), en comparación con la caña ensilada sin aditivo (1.45 g/%), y favorecer la producción de ácido láctico 2.9 g/% vs 1.5 g/% del ensilado sin aditivo. En consecuencia, es lógico que la caña fresca y la caña ensilada con NaOH tengan un valor nutritivo superior al de la caña ensilada sin aditivo.

## I N T R O D U C C I O N

La mayor parte de la tecnología desarrollada para la producción de carne y de leche se ha originado en los países altamente industrializados. Estos sistemas, desde el punto de vista alimentario, se basan fundamentalmente en el uso de cereales. Sin embargo, como es sabido, la conversión de granos en proteína animal resulta ineficaz y costosa, incluso entre las mejores razas de ganado.

Por otra parte, existe competencia entre la población humana y ganadera por los granos y el suelo agrícola, por lo que cuando no están atendidas satisfactoriamente las necesidades alimentarias de la población humana, resulta difícil justificar moralmente el empleo de cereales en la alimentación animal. Por lo tanto, es obvio que estos sistemas de producción no son los más apropiados para los países subdesarrollados, siéndolo, aún menos, para aquellos que cuentan dentro de su territorio con climas subtropicales y tropicales, pues en estas regiones son muy escasos los granos, a más de que, las gramíneas tropicales son de bajo valor nutritivo.

No obstante, las zonas tropicales explotadas científicamente, utilizando sus recursos bióticos racionalmente, representan sin duda alguna, las reservas más promisorias del mundo en lo que se refiere a su potencial para la producción agrícola y ganadera (117). Sin embargo, se debe tener cuidado para no alterar el delicado ecosistema existente, pues de lo contrario, se causarán daños irreparables que tarde o temprano repercutirán adversamente sobre la especie humana.

Como ya ha sido señalado, es evidente que en los países subdesarrollados, un factor limitante en la producción de proteínas de origen animal, es la falta de alimentos para la industria pecuaria. Este problema es muy serio en las regiones tropicales, lo cual ha ocasionado que la productividad de los animales en estas regiones sea baja, pues según datos

de la FAO (76), la extracción de carne de bovino en canal es de sólo 25 kg por cabeza al año, siendo la productividad de carne por hectárea, de sólo 5.1 kg/Ha/año. La principal causa del bajo rendimiento animal, es la insuficiente ingesta de nutrimentos, en especial durante la temporada seca. Además, de que en este clima se favorece el crecimiento y la lignificación precoz de los vegetales, con la consecuente reducción de su digestibilidad (58 y 193). Razón por la que el éxito o fracaso de un buen número de explotaciones ganaderas localizadas en el trópico, depende en gran parte del suministro de piensos en el período seco. En general, en la época de estiaje en los trópicos, se cuenta con diversos subproductos o forrajes resistentes a la sequía, como lo es la caña de azúcar, la ---cual se cultiva ampliamente, siendo además uno de los vegetales que capta más eficientemente la energía solar (88), y que produce más materia seca por unidad de superficie cultivada --- (162), asimismo proporciona numerosos subproductos industriales, los cuales podrían jugar un papel importante en la industria alimentaria animal del país. La producción promedio de caña de azúcar en México en los últimos tres años, ha sido de 71.2 toneladas por hectárea (71). Por lo que las ventajas de su uso en la alimentación animal resultan evidentes.

Naturalmente se puede aducir que el uso primordial de la caña de azúcar debe ser para la producción de sacarosa; sin embargo, aunque así fuese, es sabido que en las zonas --donde se cultiva caña para la industria azucarera, por motivos muy diversos, no se cosecha en su totalidad. Pues tan sólo en 1979 quedaron en pie 36,614 ha de caña (71). Por otra parte, una vez que la caña de azúcar ha madurado, el contenido de sacarosa baja, con el consecuente aumento de azúcares --reductores, lo cual ocasiona que su valor para la industria --azucarera disminuya (158). Por lo que aún en estos sitios, el uso de esta gramínea en alimentación animal es posible. Además, de que el empleo de la caña de azúcar con fines forrajeros se realiza comúnmente en zonas donde no existen ingenios, evitándose de esta manera una posible competencia con el hom-

bre y por otra parte, se impulsa el desarrollo de la ganadería intensiva.

Desde el punto de vista nutricional, la caña de azúcar representa una importante fuente de energía para los animales, energía basada principalmente en el contenido de hidratos de carbono disponibles (Cuadro 1). No obstante, es necesario hacer notar que su contenido en nitrógeno es bajo, motivo por el cual, no es capaz de sostener producciones elevadas, por lo que su uso se encuentra restringido a sistemas de alimentación para animales en mantenimiento, preñez temprana o bien crecimiento lento. Es obvio que cuando se requiera de producciones elevadas, los resultados dependerán del tipo de complemento dado.

La caña de azúcar se ha empleado desde hace tiempo, como un recurso de emergencia, para solucionar la falta de piensos en épocas críticas; sin embargo, actualmente se ha tratado de usar en forma rutinaria (117).

En contraste con otros forrajes, la caña de azúcar no sufre menoscabo en su digestibilidad con la madurez, ya que la acumulación de azúcares en el contenido celular, compensa la pérdida de digestibilidad de la pared de la célula (22). Esta característica, la hace particularmente valiosa ya que durante la sequía la mayor parte de los forrajes son poco disponibles y de baja calidad nutritiva.

Otra ventaja de la caña de azúcar, es que puede permanecer creciendo en el campo hasta que se requiera (202). Sin embargo, durante la estación lluviosa su valor nutritivo disminuye y su recolección se dificulta considerablemente, llegando en ocasiones a ser imposible; todo ello, aunado al aumento en esta época del stress ambiental ejercido sobre los animales (hecho que repercute incrementando los requerimientos nutricionales de los mismos), justifica ampliamente la práctica de cosecharla y ensilarla para su uso posterior (5,7

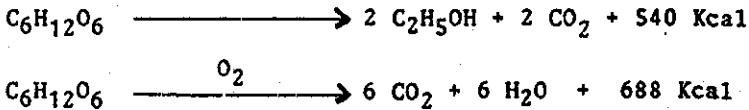
C U A D R O I

COMPOSICION DE LA CAÑA DE AZUCAR A LOS 8 Y 16 MESES DE EDAD

	E d a d d e l a C a ñ a	
	8 Meses	16 Meses
°Brix jugo	14.5 ± 0.77	16.3 ± 0.87
Fibra Acido Detergente	37.7 ± 1.02	33.4 ± 1.48
Lignina	6.24 ± 0.13	5.43 ± 0.13
Celulosa	28.6 ± 0.91	26.2 ± 0.91
Fibra Neutro Detergente	61.1 ± 1.7	54.1 ± 2.65
Silice	2.4 ± 0.28	1.06 ± 0.28
Materia Seca	20.5 ± 0.67	22.2 ± 1.76
Nitrógeno (6.25)	4.29 ± 0.28	2.89 ± 0.35
Extracto Etéreo	1.10 ± 0.08	0.81 ± 0.22
Fibra Cruda	27.7 ± 1.12	25.0 ± 1.66
Extracto Libre de Nitrógeno	61.4 ± 1.56	67.8 ± 1.4

Banda, M. (22).

y 165). La mayoría de los forrajes tropicales no son aptos para ensilarse, ya que tienen como principal desventaja el no poseer suficientes azúcares solubles; paradójicamente, al ensilar caña de azúcar se tienen que resolver problemas causados principalmente por su elevado contenido de hidratos de carbono fácilmente fermentables (Cuadro II), lo cual ocasiona que las levaduras, que representan la población microbiana predominante en la caña de azúcar, produzcan etanol más CO<sub>2</sub> (161), con una importante pérdida de energía, que en condiciones anaerobias es de 540 Kcal y en condiciones aerobias resulta de 688 Kcal (49).



Además, las levaduras en el ensilaje pueden llegar a metabolizar los ácidos orgánicos que sirven como conservador.

Por lo que respecta al comportamiento animal, los resultados obtenidos con caña de azúcar ensilada no son concluyentes. Las investigaciones realizadas en Florida, han puesto de manifiesto que el ensilaje no es un método satisfactorio para conservar la caña de azúcar, pues al comparar ensilado de caña con el ensilado de sorgo, su valor nutritivo fue del 70% con respecto a éste (155). Asimismo, otras investigaciones han mostrado menores ganancias de peso con caña de azúcar ensilada, que con caña fresca (104, 107, 108 y 142). Sin embargo, al agregar una fuente de hidratos de carbono al ensilado, éste aumenta su valor nutritivo (104), lo cual sugiere que el efecto negativo del ensilaje se encuentra en la pérdida de azúcar y en la pobre producción de precursores glucogénicos (ácido propiónico) durante su digestión (7).

C U A D R O II

COMPOSICION Y DIGESTIBILIDAD DE LA PUNTA Y TALLO DE LA CAÑA DE AZÚCAR

	F r a c c i ó n de la C a ñ a	
	P u n t a	T a l l o
Nitrógeno	5.6 g/kg/Ms	3.2 g/kg/Ms (I)
Azúcares Totales	270 g/kg/Ms	443 g/kg/Ms (II)
Digestibilidad	61.5 g/kg/Ms	67.1 g/kg/Ms (III)

(I Y II) Anon (9).  
(III) Montpellier (139).



Es un hecho que existen grandes variaciones en la calidad del ensilado, es por ello que se han usado aditivos - cuya finalidad es impedir el deterioro del producto ensilado.

La finalidad de la mayor parte de estos aditivos, - consiste en disminuir el pH para evitar la proliferación de - clostridios (130-203). Sin embargo, poca o ninguna importan-- cia se ha prestado a la acción de los aditivos sobre las leva duras.

El empleo de sustancias alcalinas como aditivos en los ensilados, ha sido pobremente investigado. No obstante, - este tipo de compuestos han probado ser especialmente útiles en el ensilado de caña de azúcar, como lo demuestran los trabajos de Iufinio et al. (191), Silvestre et al. (174), Pres-- ton et al. (161), Viana et al. (197) y otros (6 y 43).

Las sustancias alcalinas que se han empleado con - más frecuencia han sido el NaOH, NH<sub>4</sub>OH y Ca(OH)<sub>2</sub>.

El principal objetivo del uso de estos productos - químicos, es el de elevar el pH inicial del ensilaje para evi tar la proliferación de levaduras, impidiendo de esta manera, el desdoblamiento excesivo de azúcares y como resultado de -- ello, la formación elevada de etanol y ácido acético. No obs-- tante, poco se ha investigado sobre el efecto de estos trata-- mientos en cuanto a digestibilidad, síntesis microbiana y pa-- rámetros de cinética ruminal en animales alimentados con el - ensilado resultante.

## CONSUMO VOLUNTARIO

El mecanismo que regula el consumo voluntario (C.V.) de los alimentos en los rumiantes, es tal vez el proceso fisiológico más interesante y difícil de entender dentro de esta compleja área de la producción animal que es la alimentación.

Razón por la cual, la regulación de la ingesta de los alimentos en los animales con estómago pluricavitario ha sido objeto de estudio de varios investigadores; entre los que sobresalen, Blaxter *et al.* (37), Kruguer *et al.* (115), Balch *et al.* (21), Baile (14), Kleiber (110) y Corbett (51). A pesar de que estos investigadores discuten diferentes teorías sobre la regulación del consumo de alimento, ninguna de ellas cuenta con la aceptación general. No obstante, se ha puesto de manifiesto que son varios los factores que pueden intervenir en el control de este mecanismo (figura 1), habiéndose clasificado en dos grupos: factores de naturaleza física y química.

### FACTORES FÍSICOS:

#### A) Factores sensoriales.

Dado que la mucosa olfatoria y las papilas gustativas de los rumiantes son histológicamente similares a otros mamíferos (113), es muy probable que el C.V., pueda verse influenciado tanto por estímulos olfatorios como gustativos (109). Se ha comprobado que los borregos pueden preferir o rechazar el alimento por el olor (10). De la misma manera investigando la preferencia por el sabor, se encontró que estos animales son sensibles a soluciones amargas, agrias, saladas y dulces (81).

Por otra parte, se ha reportado (26), que las cabras pueden distinguir entre soluciones alcalinas en diferentes concentraciones. En tanto que en estas mismas investigaciones, se ha puesto de manifiesto que el sentido de la vista carece de im-

# FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA REGULACION DEL CONSUMO VOLUNTARIO

(SEGUN BAILE Y FORBES 1974)

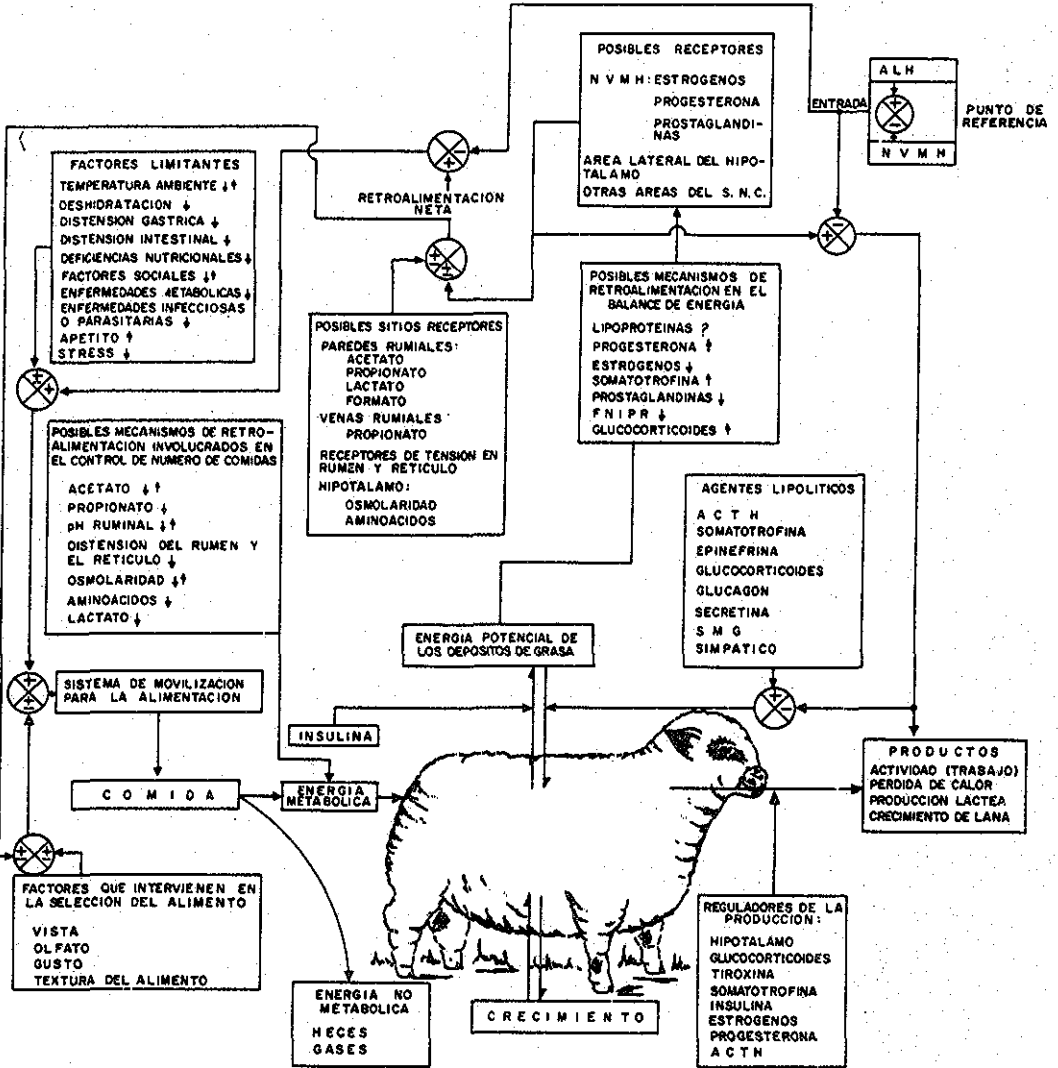


FIGURA 1

FNIPR = FACTOR NO IDENTIFICADO EN EL PLASMA DE RUMIANTES NVMH = NUCLEO VENTROMEDIAL DEL HIPOTALAMO

ALH = AREA LATERAL DEL HIPOTALAMO

SMG = SUBSTANCIA MOBILIZADORA DE LA GRASA

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

portancia en este proceso.

B) Capacidad rumino-reticular.

Campling (48), discute la posibilidad de que la cantidad consumida de un alimento, pueda verse limitada por la capacidad física del rumen lo cual soporta el concepto ampliamente difundido, de que al menos con forrajes bastos, el ganado come hasta que la distensión ruminal alcanza cierto nivel.

Por otra parte, existe una relación directa entre la ingestión voluntaria de forraje y su digestibilidad (36 y 194).

FACTORES QUIMICOS:

Dado que el animal come para suministrar nutrimentos a su organismo (especialmente energía), es obvio que los factores químicos juegan un papel muy importante en el control del consumo de los alimentos. Trabajos como el de Weston (205), en donde se informa que la energía digestible derivada de la alimentación abomasal, no tiene efecto sobre el crecimiento corporal, pero sí disminuye el C.V., representan una evidencia de que el consumo de alimento no es regulado únicamente por los procesos que acontecen en el rumen-retículo. El papel de la ingesta de alimentos en la regulación del balance de energía en rumiantes, ha sido revisado ampliamente (11, 14 y 48).

La metodología clásica empleada para observar el efecto de sustancias químicas producidas durante la digestión de los alimentos sobre el consumo voluntario, consiste en aplicar por vía endovenosa, intraruminal, abomasal o duodenal, uno o más de estos productos y registrar el efecto que producen sobre la ingesta de los alimentos. Dentro de las investigaciones clásicas, encaminadas a analizar las influencias físicas y/o quimiostáticas que regulan el C.V., se tienen los trabajos de Bines (33), quien al dar dos dietas diferentes, una a base de heno y la otra basada en granos, encontró que aproximadamente 50 minutos después de la ingestión de alimentos, se producía un aumento en la

concentración plasmática de glucosa, acetato, lactato y propionato, siendo más notorio este aumento en las dietas a base de grano. Baile y Martín (17), al investigar el efecto de la administración de insulina, epinefrina, norepinefrina, hidrocortisona, somatotrofina y algunos aminoácidos sobre el C.V. en cabras, hallaron que únicamente dosis elevadas de epinefrina causaban la disminución del C.V.

Investigando la posibilidad de que en el rumen-retículo existieran quimiorreceptores, Baile y Mayer (16), compararon el efecto de la inyección de acetato de sodio por vía intraruminal y endovenosa, encontrando que la inyección por vía ruminal disminuye el consumo voluntario. En otra investigación (14), al estudiar los efectos de los productos finales de la fermentación ruminal, se encontró que el ácido acético y propiónico disminuyen el consumo voluntario, en tanto que el ácido beta hidroxibutírico tiene un impacto moderado y la glucosa ninguno. Las investigaciones anteriores han sido complementadas y apoyadas por el hecho de que en animales alimentados en horarios fijos, la concentración de ácidos grasos volátiles aumenta en el fluido ruminal y en sangre durante y después de la comida (34, 175 y 190). Estos hallazgos han hecho necesario, que se investigue la influencia que tiene sobre el C.V. cada uno de estos ácidos orgánicos.

#### EFECTO DE LOS ACIDOS GRASOS VOLATILES SOBRE EL CONSUMO DE ALIMENTO:

##### Acetato.

Dado que es el ácido orgánico que se produce y absorbe en mayor cantidad en el rumen (118), juega un papel muy importante en el metabolismo energético del rumiante.

La instilación intraruminal de ácido acético antes y después de la comida, disminuye el C.V. en bovinos (32 y --

138), ovejas (29 y 62) y cabras (19).

En ovinos y caprinos la inyección intraruminal de acetato disminuye el C.V. en un grado mayor que al que pudiera atribuírse al aporte calórico de la cantidad inyectada (18) en borregos, la inyección endovenosa de lactato no tiene efecto sobre el C.V. (94); en cabras, al inyectar en la yugular la cantidad de acetato que previamente había sido comprobada disminuía el C.V. cuando se daba por vía intraruminal, se encontró que el efecto fue menor (15). Lo cual sugiere que existen quimiorreceptores en el rumen, los cuales no se estimulan por los niveles sanguíneos que alcanza este metabolito. Lo anterior concuerda con los informes de Martín y Baile (124), quienes encontraron que para disminuir el C.V. basta exponer a concentraciones elevadas de ácido acético el 5% del área total del rumen. Asimismo, ha quedado comprobado que el efecto del ácido acético en el rumen puede ser contrarrestado mediante la aplicación de un anestésico local.

#### Propionato.

Aunque por la cantidad producida en el rumen, se le considera el segundo metabolito en importancia, existen evidencias de que su papel como regulador del C.V. es tanto o más importante que el del ácido acético. Así se tiene, que Forbest (78), al infundir durante 3 horas sales de acetato, propionato y butirato en la vena hepática de ovejas alimentadas ad libitum, encontró que el C.V. disminuye considerablemente cuando la concentración de estos ácidos alcanza niveles de 2.1 mmol/min, cifra que se aproxima al pico de la concentración normalmente producida después de una comida copiosa (28); al incrementar la concentración a 4.2 mmol/min, se detuvo completamente el consumo de alimento. Al infundir por separado cada uno de estos metabolitos, encontró que únicamente el propionato provoca la supresión completa del consumo de alimento, lo cual apoya informes previos donde se encontró que el C.V. dis-

minuye al infundir este ácido en el rumen de ovejas (102 y - 124) y bovinos (138). Asimismo, Bhattacharya y Alulu (30), inyectaron intraruminalmente sales de los ácidos propiónico y - butírico, encontrando que únicamente el propionato en concentraciones de 0.25 Mol estimula significativamente la producción de insulina, por lo que presentan la hipótesis de que la insulina provoca la captación de propionato por el hígado.

Baile (13) señala que el área especialmente sensible al propionato es la vena ruminal, este sitio incluso fue más sensible que la vena porta.

Sea el que fuere el sitio donde se encuentren localizados los quimiorreceptores, es posible que el propionato en los ruminantes juegue un papel similar al de la glucosa en mo nogástricos; si ésto es verdad, se podría explicar por qué - los alimentos a los que se les adiciona propionato o los alimentos que producen fermentaciones propiónicas en rumen se re lacionan con bajos consumos de alimento.

Thye et al. (190), encontraron que la concentración de hidratos de carbono fácilmente fermentables, provocaban un aumento en la fermentación ruminal, con la consecuente caída de pH; lo cual facilita la absorción de los ácidos orgánicos e incrementa la formación de cuerpos cetónicos en la pared ru minal. Niveles elevados de propiónico y butírico estimulan la secreción de insulina y la captación de glucosa.

#### Butirato.

Su producción es mucho menor que la de acetato y - propionato (118), por lo que su influencia sobre el C.V. es - menor. El ácido butírico como tal, normalmente no se encuen- tra en sangre, ya que en el epitelio ruminal se transforma en beta hidroxibutirato. Se piensa que el efecto cetogénico del- butirato puede ser la causa de la disminución del C. V.,

## OTROS FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA REGULACION DEL C.V.:

### Lactato.

Presumiblemente, la concentración de ácido láctico en los ensilados es la causa del bajo C.V. de este tipo de forrajes (47 y 198). Sin embargo, los intentos realizados para probar que el lactato es el responsable del bajo C.V. de los forrajes ensilados han fracasado (68 y 188).

La presencia de histamina en los ensilados es considerada como un factor que deprime el C.V. (57), aunque su inyección intraruminal, intraomasal o endovenosa tiene poco efecto (153).

El pH y la osmolaridad del líquido ruminal son factores que pueden alterar el funcionamiento del rumen, incidiendo indirectamente sobre el C.V.; sin embargo, el ajuste del pH ruminal ha dado resultados contradictorios, por ejemplo, Bhattacharya y Warner (31) aumentaron el C.V. utilizando carbonato de sodio, bicarbonato de sodio e hidróxido de calcio. Asimismo, Emery et al. (69) obtuvieron respuestas similares al agregar carbonato de calcio; no obstante, al agregar bicarbonato de sodio se produjo una disminución en el C.V.

De lo anterior se puede concluir que dadas las características anatómo-fisiológicas de los rumiantes, el control del C.V. en estos animales sigue siendo pobremente entendido; sin embargo, existen claras evidencias de la participación de mecanismos físicos, metabólicos y presumiblemente sensoriales. Asimismo, es claro que la distensión ruminoreticular no es el único factor que limita el C.V. ya que existen evidencias que señalan la existencia de quimiorreceptores localizados tanto en el rumen como en el sistema circulatorio.



EMPLEO DE CÁNULAS EN INVESTIGACIONES SOBRE FISIOLÓGIA RUMINAL

La justificación dada para realizar investigaciones sobre fisiología ruminal, es la de lograr en los animales rumiantes el máximo aprovechamiento de los alimentos. Los resultados de estas investigaciones pueden aplicarse en el desarrollo de nuevos alimentos, o bien para el mejoramiento de los ya existentes.

En un principio, los estudios realizados sobre el funcionamiento ruminal fueron de tipo descriptivo; actualmente, el interés se encuentra en las medidas cualitativas de los metabolitos producidos en el rumen bajo condiciones específicas de alimentación y manejo. Los métodos desarrollados para medir el flujo de la digesta en el tubo gastrointestinal, dependen de la implantación de cánulas ya sea en el abomaso, duodeno o ileon. Estas técnicas también se han empleado para investigar el valor nutritivo de las dietas para rumiantes.

Con el fin de medir el flujo de la digesta proveniente del rumen, el sitio más apropiado para la canulación es el omaso (96 y 97). Sin embargo, la colocación de la cánula en el omaso es difícil, por lo que generalmente se acepta que la cánula se coloque en el abomaso o en la primera porción del duodeno. La desventaja de la fijación de la cánula en el abomaso y duodeno, es el que la composición química de la digesta del rumen se altera por la secreción de fluidos digestivos en el abomaso. Este problema se agrava cuando la cánula se coloca después del ampulla de Vater. Afortunadamente en borregos la cánula duodenal puede ser fácilmente colocada antes de la desembocadura de los conductos pancreáticos y biliares (38).

El tipo de cánula empleada puede ser clasificada como cánula simple o "T" y cánula reentrante.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

La cánula simple puede ser usada tanto para abomaso como para intestino delgado; mientras que la cánula reentrante sólo sirve para intestino delgado. Ambos tipos de cánula son permanentes y como lo evidencian los resultados, ninguna de las dos tiene efecto significativo sobre el consumo voluntario, digestibilidad o balance de nitrógeno en borregos (134). No obstante, los animales con cánula simple son más robustos y requieren de menos cuidados, además de que las cánulas reentrantes se pueden obstruir fácilmente y en general los animales viven poco tiempo (134).

## USO DE MARCADORES EN INVESTIGACIONES SOBRE FISILOGIA RUMINAL

Varios procedimientos empleados para determinar el valor nutritivo del alimento involucran el empleo de marcadores (indicadores, trazadores, sustancias de referencia), los cuales son usados en la estimación cualitativa y/o cuantitativa de fenómenos fisiológicos. Para que una sustancia pueda ser considerada como marcador, debe ser inerte, sin efectos tóxicos, fisiológicos o psicológicos, no debe ser absorbida ni metabolizada en el tracto gastrointestinal, no debe ser volúminosa, se debe mezclar íntimamente con el alimento y debe permanecer uniformemente distribuida en la digesta; además, debe tener características que permitan su rápida determinación (112).

La propiedad y empleo de estas sustancias han sido estudiadas por Kotb et al. (112) y Faichney (74).

Los marcadores por sus características pueden clasificarse en dos grupos: los que están asociados con la fase líquida de la digesta, por ejemplo el PEG y Cr-EDTA, y los que están asociados con la fase sólida, como la lignina y el óxido de cromo ( $Cr_2 O_3$ ).

En los experimentos sobre el funcionamiento digestivo de los rumiantes, se pueden usar marcadores solubles en agua para estimar la tasa de movimiento de la digesta, el volumen de una víscera y la tasa de absorción de solutos en el intestino. El marcador más usado para este fin es el polietilenglicol (PEG) (101 y 112).

Para la fase líquida, Downes y McDonald (60), sugieren el uso del complejo  $^{51}Cr$ -EDTA, el cual es fácilmente determinado en el laboratorio.

El uso de Cr-EDTA es discutido por Binnerts et al. (35), estos investigadores estudiaron su empleo en experimentos sobre fisiología digestiva en rumiantes. Describen un método para su determinación, mediante el uso del espectrofotómetro de absorción atómica, observando que un porcentaje pequeño de la dosis dada, era absorbida y excretada por la orina. En ovejas, este porcentaje es de alrededor del 3 %. Estos datos concuerdan con los reportes de Downes y McDonald (60).

Con el empleo de cánulas simples, la estimación del flujo de la digesta es totalmente dependiente del uso de marcadores. Como quiera que sea, se puede optar por dos procedimientos para calcular el flujo: en el primero la cánula simple puede ser usada para proveer muestras que son representativas del flujo de la digesta a través del intestino, la segunda opción consiste en utilizar la cánula únicamente para obtener muestras de la fase líquida y sólida de la digesta; los flujos se calculan entonces por referencia al marcador usado. Este método puede emplearse sin restricciones, ya sea que se trate de animales fistulados en abomaso o intestino delgado; sin embargo, el procedimiento se basa en asumir que las fases líquida y sólida se puedan separar por centrifugación, o bien por filtración, esto se hace con la finalidad de diferenciar los constituyentes, tanto de la fase líquida como de la sólida. Sin embargo, Hogan y Weston (92), apuntan que cuando se muestrea a través de una cánula simple, es difícil obtener muestras que contengan solutos y partículas en las mismas proporciones en las que están presentes en la digesta que fluye a través del intestino; por lo que para superar este problema, sugieren un método basado en el uso de dos marcadores simultáneamente, uno para la fase sólida y otro para la fase líquida (92 y 205). Sin embargo, la exactitud de los resultados obtenidos no depende únicamente del marcador empleado, sino también del tipo de cánula y localización de la misma, además de la técnica para la colección de la digesta.

Con una preparación quirúrgica y procedimientos en la colección que provean una muestra representativa de la digesta, equivalente a la composición del contenido ruminal, carece de importancia el marcador y el hecho de que se encuentre asociado estrechamente a determinada fracción.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## E-N-S-I-L-A-J-E

Una manera de conservar el forraje excedente es ensilándolo; el ensilaje es básicamente un proceso de fermentación anaerobio, en donde los azúcares hidrosolubles son fermentados por bacterias homolácticas que producen ácido láctico, o bien por bacterias heterolácticas que producen ácido láctico, acético, manitol, etanol y CO<sub>2</sub>; asimismo, las levaduras pueden intervenir produciendo ácido láctico, etanol y bióxido de carbono (129 y 130).

Normalmente, durante la fermentación la proteína de los forrajes es degradada, esta proteólisis comienza inmediatamente después de que el forraje ha sido cortado; por lo que, aunque se ensile adecuadamente, es frecuente que exista una disminución en la proteína original. Bajo estas condiciones, las enzimas de los vegetales parecen ser las principales responsables de la disminución de la proteína verdadera (208). La fermentación de los hidratos de carbono de los forrajes se hace posible, debido a que las bacterias aerobias que predominan en el forraje fresco, son reemplazadas rápidamente por bacterias anaerobias cuando el forraje es ensilado, razón por la que normalmente las bacterias presentes en el forraje son suficientes para iniciar la fermentación láctica (189).

Al ensilar, se tiene como objetivo conseguir y mantener condiciones anaerobias para facilitar la proliferación de lactobacilos, con el fin de que estas bacterias produzcan elevadas concentraciones de ácido láctico, el cual actúa como conservador (129, 130 y 203), con el fin de impedir el crecimiento de microorganismos indeseables (en especial clostridiums). Asimismo la mayoría de los investigadores dan gran importancia al hecho de lograr y mantener un pH menor a 4.2, pero mayor a 3 (183, 203 y 207). Si los clostridiums proliferan, ocurre una segunda fermentación, en donde los hidratos de carbono solubles y el ácido láctico producido son degradados a ácido acético, ácido butírico y bióxido de carbono, produciéndose desami-

nación y transaminación de los aminoácidos (129 y 130).

Una limitante que impide que muchos forrajes se puedan ensilar satisfactoriamente, es la falta de glúcidos solubles, ya que cuando su contenido es bajo, ninguna bacteria puede producir suficiente ácido láctico para conservar adecuadamente el forraje. Tratando de superar este obstáculo, se le ha agregado al forraje una gran diversidad de compuestos químicos y cultivos de microorganismos, los cuales se han designado con el nombre genérico de aditivos, los que según su mecanismo de acción se pueden dividir en dos grandes grupos (203).

- a) Estimulantes de la actividad microbiana: Hidratos de carbono y cultivos microbianos.
- b) Modificadores de la actividad microbiana: Ácidos orgánicos, ácidos inorgánicos, álcalis y antibióticos.

Sin embargo, no hay que olvidar que ningún aditivo puede substituir las prácticas adecuadas de ensilaje, ya que se ha encontrado que el factor constante de la fermentación butírica, es la penetración de aire en los estadios tempranos de la fermentación (149). En estas condiciones, las bacterias gram negativas proliferan considerablemente, produciendo concentraciones elevadas de ácido butírico y ácidos grasos de cadena larga. Este tipo de fermentación, no se previene con concentraciones elevadas de hidratos de carbono.

En general se acepta que si el forraje tiene más de 2.5% de glúcidos solubles en base fresca, no requiere aditivos para producir un buen ensilado. No obstante, para la conservación eficiente del forraje, es necesario minimizar las pérdidas debidas a fermentaciones indeseables, tanto durante el ensilaje, como posteriormente después de abrir el silo. Se debe con-

siderar que durante la época en que se está utilizando el ensilado, éste queda expuesto al oxígeno atmosférico, pudiendo deteriorarse en calidad nutritiva por el crecimiento de microbios aerobios, este problema es muy serio en climas cálidos y húmedos (150).

Ohyama (150) y Thomas (189), sugieren que la estabilidad del ensilado en presencia de oxígeno, es mayor cuando su contenido en levaduras es bajo; a este respecto, Ohyama (150), informa que los ensilados que contienen más de  $10^5$  levaduras/g son muy inestables. Por otra parte, se ha informado (151) que durante el proceso de deterioro aeróbico del ensilado se producen dos elevaciones de temperatura, la primera ocasionada por el crecimiento de levaduras y la segunda por la proliferación de hongos. En condiciones anaerobias, el pH ácido es suficiente para preservar adecuadamente el forraje; sin embargo, en condiciones aerobias, el pH ácido per se no puede impedir el deterioro aeróbico del ensilado, esto se debe en gran parte, a que las levaduras pueden crecer a pH bajos (151). El deterioro aeróbico causa una fuerte disminución en el contenido de glúcidos y ácido láctico del ensilado, esto es debido a que estos compuestos son usados como substratos por las levaduras y hongos (150). Por otra parte, se ha observado que el deterioro aeróbico no se efectúa en ensilados que contienen elevadas concentraciones de ácido butírico y ácido acético (149, 150 y 152) por lo que paradójicamente, los ensilados de buena calidad que contengan concentraciones elevadas de hidratos de carbono y ácido láctico serán menos estables que los ensilados de mala calidad, caracterizados por poseer elevadas concentraciones de butirato y ácidos grasos volátiles.

Los cambios que ocurren en la composición del forraje durante la fermentación, provocan que la energía bruta del ensilado sea mayor a la del forraje antes de ser ensilado (131, 137 y 199). A este respecto, McDonald (129 y 130), informa que el rango de incremento de la energía bruta de 6 ensilados varió entre 3.4 y 14.7% del forraje original; sin embargo, la --



energía metabolizable no experimenta ningún incremento (66).

#### CONSUMO VOLUNTARIO DEL ENSILADO:

En varios experimentos se ha informado que el consumo voluntario (C.V.) de los ensilados, es menor que el de los forrajes frescos o henificados (47 y 84). Demarquilly (59) encontró que la disminución del C.V. de 87 ensilados suministrados a ovejas, osciló del 1 al 64%. Esto es atribuido generalmente a la fermentación ácida durante el ensilaje (203). Sin embargo, hasta el momento no existen pruebas contundentes de que el C.V. se deprime por las concentraciones elevadas de ácidos grasos volátiles en el forraje ensilado (61).

Wilkins (203), en un estudio con 70 leguminosas encontró una correlación negativa entre C.V. y concentración de amoníaco y ácido acético y una correlación positiva entre C.V. y la concentración de ácido láctico, lo cual concuerda con lo informado por Demarquilly (59), quien encontró una correlación negativa entre C.V. y contenido de ácido acético. En el caso de los ensilados mal conservados, tampoco se ha establecido claramente cuál es la causa del bajo C.V., Sin embargo, se piensa que es debido a los efectos farmacológicos de las aminas, particularmente de la histamina y triptamina que se encuentran presentes en cantidades importantes en este tipo de ensilado (143 y 144).

Aunque no se ha demostrado de manera irrefutable, -- que el consumo del ensilado se encuentra limitado por los productos formados durante la fermentación, existen evidencias de que el consumo se deprime por la adición de ácido láctico; además, de que la infusión intraruminal de ácido fórmico y acético, tienden a disminuir el C.V. (140, 207 y 208). En base a estas observaciones, se han hecho investigaciones con el fin de contrarrestar estos efectos; así se tiene que, Thomas (187), en

contró que la neutralización parcial del pH del ensilado de maíz se refleja en un aumento en el pH de la sangre, atribuyendo el aumento del C.V. a la disminución del stress ácido básico. Sin embargo, existen discrepancias a este respecto, pues Farhan y Thomas (75), encontraron que la adición de bicarbonato de sodio no aumenta el consumo voluntario en borregos y lo disminuye en vacas.

Jarrige et al. (103) y Farhan et al. (75), informan que el C.V. de los ensilados es controlado por los mismos mecanismos que regulan el C.V. del forraje fresco, vgr., la disminución del tamaño de las partículas alimenticias debido a la masticación y la digestión microbiana.

En términos generales se puede decir, que el ensilaje es un método eficiente que se puede emplear en la conservación de forrajes. Desafortunadamente, la mayoría de los forrajes tropicales no son aptos para ensilarse, ya que tienen como principal desventaja, el no poseer suficientes hidratos de carbono fácilmente fermentables.

## MÉTODOS PARA DETERMINAR LA EFICIENCIA DE LA SÍNTESIS MICROBIANA

Los compuestos nitrogenados que llegan al duodeno de los animales rumiantes comprenden proteína microbiana, proteína del alimento, ácidos nucleicos de origen microbiano, constituyentes de la pared celular de las bacterias, nitrógeno amoniacal, nitrógeno endógeno incluyendo las enzimas proteolíticas y gástricas. La determinación del origen de estos compuestos depende fundamentalmente de las técnicas que estiman la contribución de la proteína microbiana.

La mayoría de los métodos empleados para medir la biomasa microbiana proveniente del rumen, se basan en la determinación de la concentración de algún componente microbiano. Dentro de estos compuestos se han usado el ácido diaminopimélico (DAP) (93, 100 y 119), ácido ribonucleico (ARN) (128, 129 y 181);  $^{35}\text{S}$ cisteína (67);  $^{35}\text{S}$ metionina (85);  $^{35}\text{S}$  (26, 87, 98 y 116);  $^{15}\text{N}$  (111 y 172);  $^{32}\text{P}$  (192); perfiles de aminoácidos (72). La técnica empleada para medir la síntesis de proteína en protozoarios, se basa en la determinación del ácido 2 amino-etil fosfónico (AEP) (83 y 201). Dado que las verificaciones experimentales de estos métodos son difíciles de realizar, es necesario tener en mente las deficiencias que cada uno de ellos pueda presentar.

### ACIDO DIAMINO-PIMELICO (DAP)

El uso de DAP como marcador se inició en 1958 con los trabajos de Weller et al. (204), este ácido, presumiblemente se encuentra en la membrana de las bacterias, pero no se localiza en los alimentos; sin embargo, Coleman (50) y Stern et al. (185 y 186), han detectado este compuesto en protozoarios. Por otra parte, la exactitud de este método se encuentra fincada en la relación DAP/N<sub>2</sub> (93), es por ello que su exactitud es puesta en duda.

Ahora bien, hay que considerar que el DAP, únicamente sirve para calcular la biomasa bacteriana; y aunque se da por hecho que la proteína duodenal es en su gran mayoría de origen bacteriano, la digesta duodenal puede contener un porcentaje considerable de proteína derivada de los protozoos y dado que la composición de los protozoarios puede diferir de las bacterias (167), es probable que se tenga una estimación errónea tanto de la proteína, como de la biomasa microbiana total.

#### ACIDO RIBONUCLEICO (ARN):

El ARN fue empleado por Smith y McAllan (181), para determinar la proteína microbiana sintetizada, basándose en la premisa de que todo el ARN de la dieta es degradado, por lo que la única fuente serían los microorganismos ruminales (126). No obstante, Buttery y Cole (46), ponen en duda que el ARN sea completamente degradado, por lo que sugieren que este método puede sobreestimar la proteína microbiana sintetizada, sobre todo, cuando se dan alimentos que han sido tratados con objeto de disminuir la solubilidad de la proteína. Asimismo, además de que su determinación es laboriosa (127), se ha informado variaciones en la relación ARN/N<sub>2</sub> (177), atribuibles principalmente a la dieta y al manejo de los animales, lo cual repercute desfavorablemente en su exactitud.

#### PERFILES DE AMINOACIDOS:

Se ha propuesto una técnica (72) para determinar la proteína dietaria y microbiana, basándose en la determinación de los aminoácidos; sin embargo, ésta ha sido criticada (145), argumentándose que es imposible conocer con exactitud la tasa de degradación de las proteínas presentes en la dieta.

### ADENOSIN-TRI-FOSFATO (ATP):

El uso de ATP como marcador, fue propuesto por Forsberg y Lam (79), basándose en los supuestos de que este compuesto se encuentra únicamente en las células vivas, siendo su concentración muy semejante en todos los microorganismos. Su determinación es fácil y económica, no obstante, advierten que pueden existir variaciones en la extracción del ATP del rumen, además de que han observado variaciones en la concentración de ATP entre bacterias.

### ACIDO 2 AMINO-ETIL-FOSFONICO (AEP):

Este ácido está presente en los protozoarios, pero no en bacterias ni alimentos, por lo que este compuesto se ha empleado como marcador interno en la determinación de la biosíntesis de protozoarios. Por lo que respecta a su determinación, es difícil y se debe tener especial cuidado para evitar errores (52).

### ISOTOPOS:

#### Fosforo radiactivo $^{32}\text{P}$ .

Buchtols y Berger (44), propusieron el empleo de fósforo marcado para medir el crecimiento microbiano in vitro, basándose en los hallazgos de sus investigaciones en donde observaron que la incorporación de fósforo dentro de los fosfolípidos microbianos era de casi el 100%; posteriormente, Van Nevel y Demeyer (192), amplían la aplicación de esta técnica al utilizar  $^{32}\text{P}$  para medir la síntesis microbiana in vivo. Sin embargo, en la práctica han observado que este método es inexacto, debido a que la composición de las bacterias no permanece constante durante su crecimiento, además de que se pasa por alto el hecho de que no todo el fósforo que incorporan los microorganismos procede de la poza de fósforo.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### Nitrógeno pesado ( $^{15}\text{N}$ ).

Se basa en el empleo de  $(^{15}\text{NH}_4)\text{SO}_4$  (159), o de  $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$  (125). Evidentemente, estos métodos están basados en la incorporación de nitrógeno amoniacal, pero no se toma en cuenta la proteína microbiana sintetizada por la incorporación directa de aminoácidos y péptidos, lo cual conlleva implícito un error.

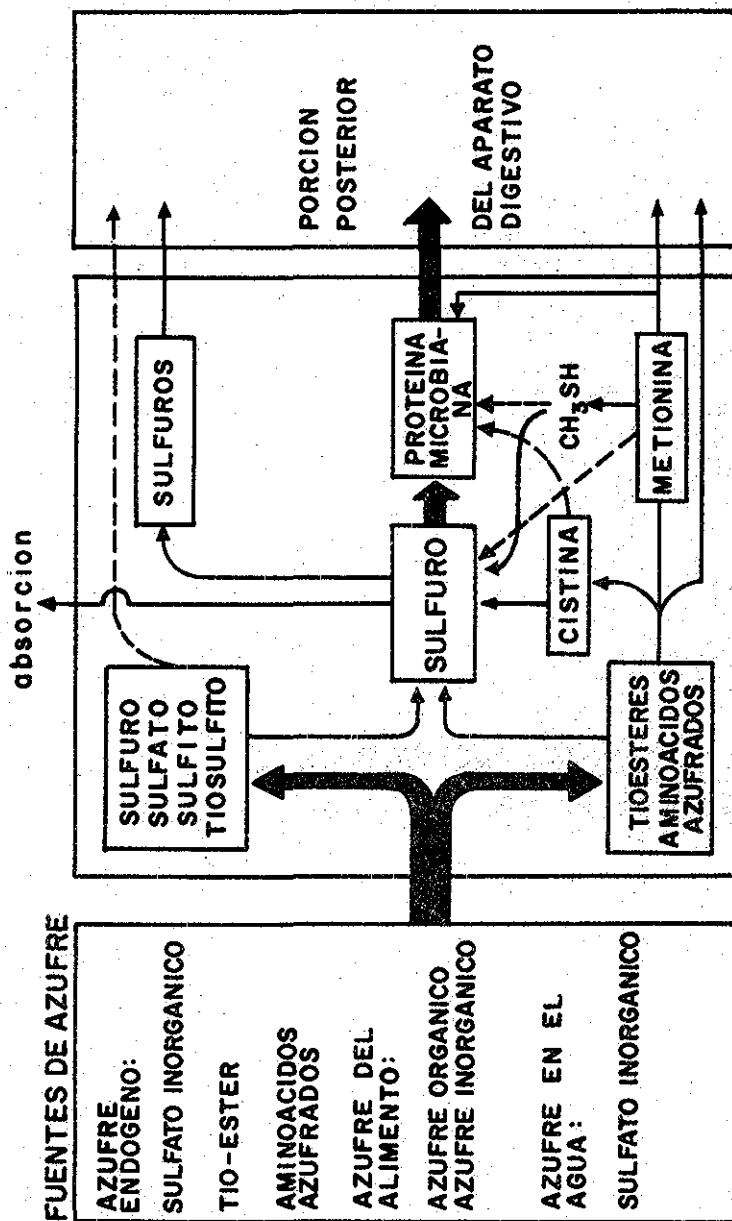
### Azufre radiactivo ( $^{35}\text{S}$ ).

Hendrick (90) y Walker *et al.* (201), fueron los primeros que sugirieron el uso de  $^{35}\text{S}$  como marcador, utilizándolo en forma de  $\text{Na}_2^{35}\text{S}$  para marcar la poza de sulfuro del rumen (figura 2). Dado que la actividad específica del  $^{35}\text{S}$  es la misma para todos los microorganismos ruminales, este método está indicado para determinar la producción de proteína, tanto de origen bacteriano, como la sintetizada por los protozoarios (24). No obstante, hipotéticamente se debe tener en cuenta que pueden existir variaciones, dependiendo de la magnitud en que los protozoarios se encuentren alimentados de bacterias o partículas alimenticias. En este método se da por un hecho, que todo el azufre incorporado en la proteína microbiana pasa primero por la poza de  $\text{H}_2\text{S}$  (figura 2). En contraste, Nader y Walker (141), a partir de sus investigaciones realizadas *in vitro*, informan que existe un error al no considerar al azufre proveniente de los aminoácidos. Estos informes son apoyados por los resultados de las investigaciones realizadas *in vivo* por Gawthorne (80), McMenemy (132) y Salter (172), quienes encontraron que cantidades importantes de azufre son incorporados a los aminoácidos microbianos sin pasar por la poza de  $\text{H}_2\text{S}$ .

El método que predomina para el uso de  $^{35}\text{S}$  como marcador, se basa en la diferencia de actividad de este isótopo entre el contenido duodenal y una fracción de bacterias puras

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

PRINCIPALES RUTAS METABOLICAS DEL AZUFRE EN EL RUMEN



RUMEN

(Según Bray y Till, 1975)

FIGURA 2

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

en relación a un aminoácido, el que puede ser cistefna, Elliot (67) y Leibholz (116); metionina, Beever et al (24) y Harrison (85). No obstante, se debe estar conciente de que existe incorporación directa de los aminoácidos a la protefna microbiana (145). La desventaja de este método es que es muy laborioso y requiere de equipo costoso.

Todos los métodos descritos anteriormente, tienen en común la obtención de una muestra pura de los microorganismos del fluido ruminal, siendo esta fracción, la que se emplea para medir la concentración o la actividad del marcador, asumiendo de antemano, que esta muestra es representativa del total de la población microbiana que llega al duodeno, lo cual no es totalmente cierto, ya que algunos microorganismos se encuentran en la fase líquida, en tanto que otros, se encuentran adheridos a las partículas alimenticias y los restantes se encuentran unidos a la pared ruminal. Por lo que es obvio, que las técnicas comúnmente empleadas para aislar la fracción pura de bacterias, únicamente capta las bacterias presentes en la fase líquida.

Por lo anterior, es evidente que no es posible hacer una evaluación exacta sobre la precisión de ninguno de los métodos señalados. No obstante, se pueden hacer comparaciones de los resultados obtenidos, mediante la aplicación simultánea de 2 o más marcadores y de esta manera, obtener su relativa exactitud. Así tiene que Kennedy y Milligan (106), compararon el uso de  $^{35}\text{S}$  y  $^{15}\text{N}$  como marcadores, encontrando que el valor para la síntesis microbiana fue de un 10% mayor cuando se usó  $^{35}\text{S}$ . Por otra parte, Ling y Buttery (120), comparando el uso de ARN,  $^{35}\text{S}$ , DAP y AEP como indicadores de la producción de protefna microbiana, encontraron que el AEP se encuentra presente en la dieta y las bacterias, por lo que su valor como marcador de protefnas provenientes de protozoos es dudosa. En lo que respecta al DAP, su desventaja estriba en que no se toman en cuenta los protozoos, concluyendo que, cuando se requiere de un valor total, se puede usar el ARN o bien el  $^{35}\text{S}$ , siendo este último el más apropiado.

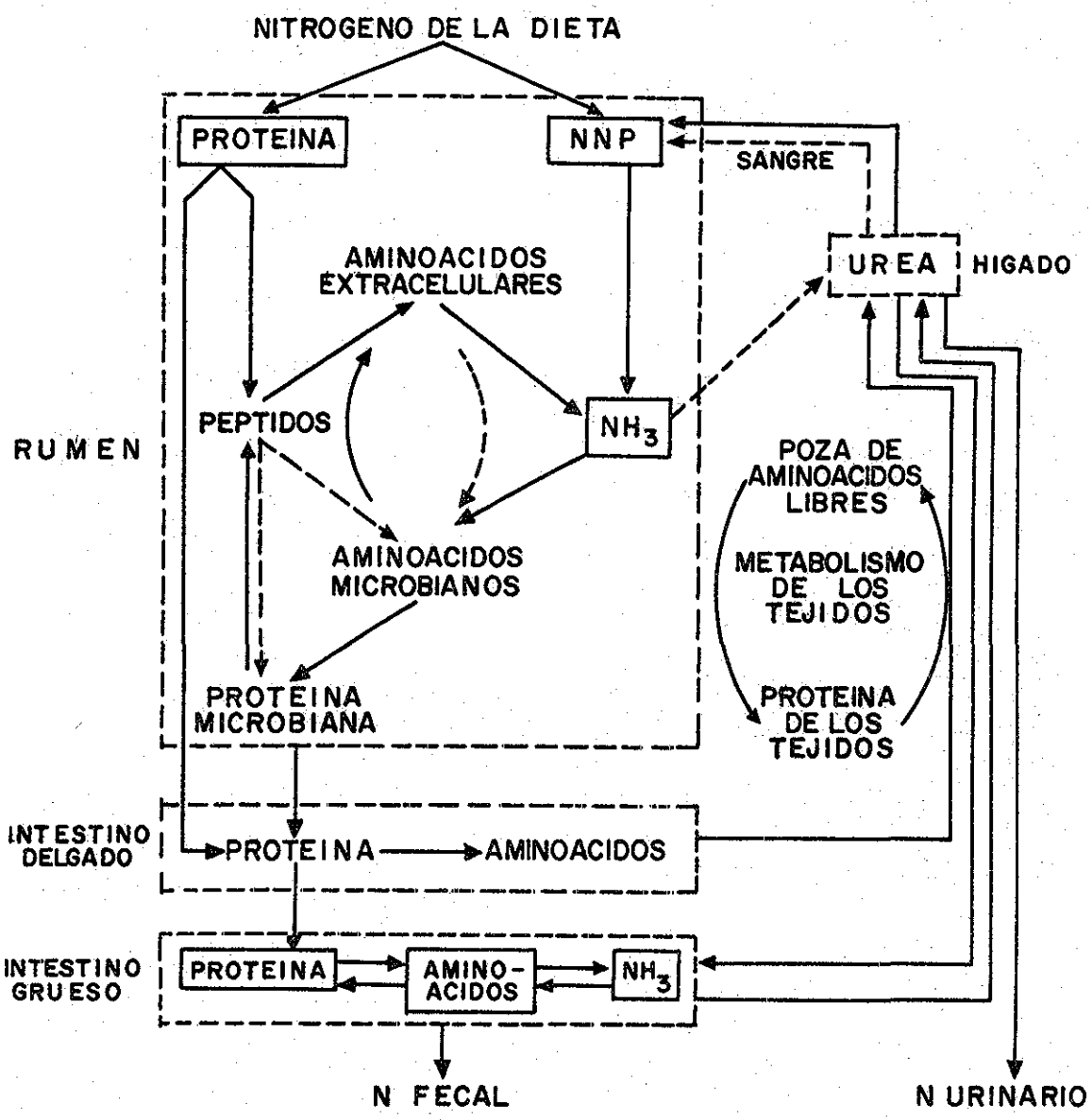


### USO DE NITROGENO NO PROTEINICO (NNP) EN ALIMENTACION DE RUMIANTES

Debido a la presencia de microorganismos en el rumen, la forma en que los rumiantes usan la protefna dietaria difiere considerablemente de los animales de estómago simple (figura 3). El nitrógeno que entra al rumen a través del alimento, principalmente como protefna, o en el caso de ensilados como protefna y aminoácidos, o bien como nitrógeno no proteínico (NNP) (146 y 147), es metabolizado; obteniéndose como producto final de la fermentación amoniaco; aunque también se pueden encontrar pequeñas cantidades de péptidos, aminoácidos y bases púricas y pirimídicas (180).

Los microorganismos del rumen se caracterizan entre otras cosas, por su capacidad para sintetizar los aminoácidos esenciales que requiere el huésped, hecho que hace a los rumiantes independientes de la calidad de la protefna consumida (figura 3); sin embargo, esta afirmación está sujeta a discusión, -- por una parte, se tienen los trabajos de Bryant (39 y 40) quien informa que el 80% de 42 cepas de bacterias aisladas del rumen usan  $N-NH_3$  como fuente principal de  $N_2$ , además de que el amoniaco resultó ser esencial para el crecimiento de ciertas cepas de bacterias. No obstante, se tienen claros indicios de que los microorganismos del rumen usan aminoácidos preformados, esto queda de manifiesto en los trabajos in vitro realizados por Maeng et al. (122), quienes al examinar el crecimiento de las bacterias, usando como única fuente de nitrógeno a la urea, encontraron, que al reemplazar el 25% de urea por 18 aminoácidos el crecimiento bacteriano se incrementa en un 100%. Estas observaciones prosiguieron en experimentos subsecuentes (123), en donde se examinaron los efectos de reemplazar la urea por aminoácidos sobre la tasa de crecimiento microbiano y la producción de ATP (Y ATP). La mezcla de aminoácidos disminuyó el tiempo medio de división bacteriana de 6.7 a 3.4 h, en tanto que los valores para Y ATP aumentaron de 15.4 a 20.6 g/100g de materia orgánica digestible (MOD).

# DIGESTION Y METABOLISMO DEL NITROGENO EN EL RUMIANTE



(Segun Mercer y Annison, 1976)

FIGURA 3

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

A este respecto, existen trabajos (2 y 40), en donde se ha demostrado, que ciertos aminoácidos, péptidos y ácidos grasos de cadena ramificada, han mostrado influencia sobre el crecimiento de cultivos puros de bacterias ruminales; lo cual ha sido comprobado in vivo por los trabajos de Nolan y Leng (146), Nolan y Norton (147), quienes encontraron que cantidades importantes de nitrógeno microbiano, provienen de la incorporación directa de aminoácidos y péptidos de la dieta.

Por otra parte, se ha encontrado que al suministrar dietas con proteína verdadera, las bacterias ruminales obtienen de un 25 a un 50% de su nitrógeno de fuentes diferentes al amoníaco (3 y 157).

Hume (96), al usar como fuente de nitrógeno urea, glicina, caseína y zeína, obtuvo los siguientes valores para síntesis microbiana en borregos, 17.1, 19.8, 23.3 y 22.5 g de proteína cruda por 100 g de MOD, respectivamente. Este autor sugiere que la urea dió un valor más bajo por falta de aminoácidos preformados. En otra investigación realizada con borregos, a los que se les dió una dieta a base de heno de leguminosa, se encontró que el 44% de  $N_2$  fue incorporado por los microorganismos directamente de la dieta (147). Asimismo, cuando las ovejas fueron alimentadas con gluten de maíz, se observó que aproximadamente el 44% de los aminoácidos azufrados provenían del gluten. Los resultados de estas investigaciones han sido comprobados a últimas fechas por Salter (172), quien encontró al usar  $^{15}N$  que, cuando se da una dieta con una cantidad adecuada de aminoácidos, la prolina, arginina, histidina, metionina y fenilalanina fueron incorporados directamente a los microorganismos, concluyendo que la metionina y la fenilalanina pueden ser limitantes para el crecimiento microbiano sobre todo cuando se suministran dietas bajas en proteína y altas en NNP.

Sin embargo, pese a las evidencias presentadas sobre el estímulo que pueden ejercer las proteínas preformadas sobre el crecimiento microbiano, este efecto no es muy claro en las condiciones de cultivo tan variables como las que se presentan en el rumen (40, 97 y 164) y así como existen informes que señalan la importancia de la proteína preformada, existen otros entre los que destaca el de Kropp et al. (114), quienes encontraron que al sustituir cantidades iguales de  $N_2$  de la soya por urea, la producción de proteína microbiana aumentó, lo cual concuerda con lo informado por Pitzén (160) quien halló, que la sustitución de soya por urea aumentaba la síntesis de proteína microbiana de 16.5 a 20.1 g/100 g de MOD. Recientemente, Ben Ghedalia et al. (27), no obtuvieron ningún beneficio al adicionar caseína o harina de pescado a una dieta cuya única fuente de  $N_2$  era la urea. No obstante, al adicionar gluten de maíz, la síntesis de proteína microbiana aumentó, por lo que sugieren que en dietas que contengan poco o nada de proteína preformada, la adición de una proteína de degradación lenta, puede ser benéfica. En conclusión, de acuerdo con lo discutido anteriormente y según lo señalado por Pilgrim (159); Nolan et al. (147), así como Al Rabbat y Heaney (3 y 4), se puede afirmar que dependiendo de las condiciones experimentales, el porcentaje de  $N_2$  microbiano proveniente del  $N-NH_3$  varía ampliamente, ya que puede ir del 40 al 100%.

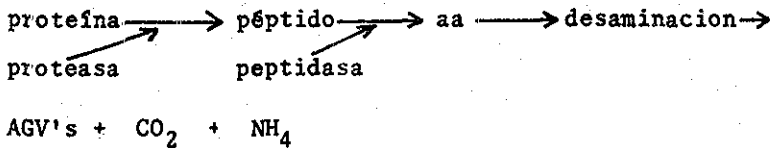
Independientemente de cual sea el porcentaje de  $N-NH_3$  o de aminoácidos preformados que usan los microorganismos ruminales, las revisiones de literatura que se han efectuado hasta la fecha sobre la utilización del NNP por el rumiante (54), han puesto de manifiesto el gran valor que tiene este compuesto en la dieta de estos animales.

Para que el NNP sea útil, debe ser hidrolizado hasta amoniaco (ya sea que se presente este compuesto como ión  $NH_4^+$  o desionizado  $NH_3$ ) pues es esta forma en que las bacterias lo pueden aprovechar (2 y 40).

## FUENTES DE AMONIACO:

a).- Proteína dietaria.

Debido a que aproximadamente el 40% de las bacterias ruminales tienen actividad proteolítica, a más de que los protozoarios están dotados de poderosas proteasas intracelulares cuyo pH óptimo está entre 6-7, la proteína de la dieta se hidroliza rápidamente en el rumen.



Entre los AGV's de importancia formados por desaminación, están el isobutirato y el isovalerato. Es importante señalar la presencia de estos AGV's en el rumen, debido a que éstos sirven como factores de crecimiento para los microbios y como materia prima para formación de AGV's de cadena larga. Además de estos isoácidos, se pueden encontrar pequeñas cantidades de ácido propiónico y butírico que son formados por la degradación de algunos aminoácidos vgr., la degradación de cisteína, ácido glutámico y serina, va a producir ácido pirúvico, el cual puede ser transformado a ácido acético, propiónico y butírico (42).

b).- Nitrógeno endógeno.

El reciclaje de  $N_2$  juega un papel importante en la economía ruminal, la principal fuente de  $N_2$  endógeno es la saliva, como lo demuestra Hogan (91), quien encontró que el 24% de  $N_2$  salival es urea, en tanto que el resto está dado por mucoproteínas y péptidos. Según los reportes de Houpt y Houpt

(95) y de Nolan y Leng (146), la importancia del reciclaje de la urea desde la sangre a través del epitelio ruminal, es dudosa. Lo anterior es apoyado por el hecho de que niveles sanguíneos elevados de urea, tales como 20 mg/100 ml en ovejas, Weston y Hogan (205), no provocan como era de esperarse el aumento de los niveles de  $N-NH_3$  en el rumen.

Asimismo, Hogan (91), sugiere que para bovinos alimentados con forraje y concentrado, el aporte de  $N_2$  endógeno es de 1.8 g/kg M.S. consumida, en tanto que para ovejas estima valores de 2 a 5 g/N/24 horas.

#### NIVELES OPTIMOS DE AMONIACO EN EL RUMEN:

Debido a la gran importancia que tiene el  $N-NH_3$  como precursor de la proteína bacteriana, se han realizado un buen número de trabajos para determinar los niveles óptimos de este compuesto, con el fin de lograr un máximo de proteína microbiana. Sin embargo, no existen cifras definitivas, sino que por el contrario, las concentraciones reportadas como óptimas difieren considerablemente entre sí.

Smith (177), trata de explicar la diferencia entre los datos reportados, señalando que las variaciones en la población microbiana, hacen imposible que una misma concentración de  $N-NH_3$  pueda dar un crecimiento microbiano máximo en todos los casos. Por otra parte, es interesante hacer destacar el hecho de que existen varias enzimas involucradas en la fijación de  $N_2$ , esto puede explicar en parte el por qué el margen de aprovechamiento óptimo del  $N-NH_3$  es tan amplio. Entre las enzimas más importantes implicadas en la fijación de amoníaco, está la glutamil sintetasa (1); enzima que tiene gran afinidad por el amoníaco siendo su  $K_m$  de 0.2  $\mu$ g y su  $V_{max}$  de 2 a 3 mM (70). La concentración de esta enzima, tiende a aumentar cuando la concentración de amoníaco es baja. Otra enzima que participa en la captación de amoníaco, es la glutamato des

hidrogenasa, dado que la afinidad de esta enzima por el  $N-NH_3$  es baja, sólo puede actuar eficientemente cuando los niveles de amoníaco son de 12 a 18 mM/100 ml (20).

En algunos trabajos in vitro (2, 8, 20 y 173), se ha encontrado que la máxima producción microbiana, se obtiene cuando la concentración de  $N-NH_3$  alcanza los 7-8 mg/100 ml.

Por otra parte, en investigaciones realizadas in vivo, Hume et al. (97), encontraron que se obtiene un crecimiento microbiano máximo, cuando los niveles de  $N-NH_3$  son de 9 mg/100 ml de líquido ruminal, Buttery et al. (45), reportan que el nivel óptimo de amoníaco es de 5.6 a 7 mg/ $NH_3$ -N/100 ml, en tanto que Okorie et al. (154), obtuvieron el máximo de proteína microbiana in vivo, con una concentración de 5 mg de  $NH_3$ /100 ml de líquido ruminal; en contraste, Miller (137), encontró un valor de 29 mg/100 ml; asimismo, Maeng et al. (123), obtuvieron el máximo crecimiento con una concentración de  $N-NH_3$  de más de 36 mM, lo cual concuerda con Allen et al. (1), quienes hallaron que el valor más grande para síntesis de proteína microbiana en el rumen de corderos alimentados con dietas altas en energía y bajas en proteínas suplementadas con urea, tenían lugar cuando la concentración de  $N-NH_3$  era de 23.9 mg  $N-NH_3$ /100 ml, Mehrez (136), usando la técnica de la bolsa de dacrón, encontró que para una fermentación máxima, se requiere de 23.5 mg/100 ml, Roffler et al. (170), en un intento por obtener valores más representativos, al examinar los niveles de  $N-NH_3$  de líquido ruminal de ganado alimentado con 35 raciones diferentes, conteniendo únicamente fuentes naturales de proteína, encontraron una relación que es definida con la siguiente ecuación:

$$NH_3-N \text{ (mg/ml)} = 10.5 - (2.5 \times \% \text{ de P.C.}) + (0.159 \times \% \text{ de P.C.}^2)$$

Por lo anterior, se puede deducir que es prácticamente imposible, establecer un nivel óptimo de  $NH_3$ , ya que éste dependerá de las condiciones particulares de cada dieta.

Por último, es importante tener en cuenta que existen evidencias de que las concentraciones elevadas de  $\text{NH}_3$ , no inhiben el crecimiento microbiano in vitro (173) en contraste, la baja producción de biomasa microbiana, puede ser causada por -- concentraciones bajas de amoniaco, tal como lo evidencian -- Beever et al. (25), quienes en sus investigaciones observaron que la digestibilidad de la M.S., en el rumen de las ovejas -- alimentadas con ensilados convencionales o ensilados tratados con formalina, fue similar; sin embargo, la biomasa producida por el ensilado convencional fue 3 veces mayor que la sinteti-- zada con el ensilado con formalina.

En concordancia con lo anterior, Satter y Slyter -- (173), encontraron in vitro, que concentraciones de amoniaco menores de 3.6 mg/100 ml, deprimen el crecimiento microbiano, no así, la producción de AGV's.

Al evaluar los niveles óptimos de  $\text{N-NH}_3$  ruminal, es necesario tomar en consideración que existe absorción desde -- el rumen a la sangre (54) y líquido peritoneal (53), es por-- ello, que al igual que la obtención de niveles óptimos de --  $\text{N-NH}_3$  en el rumen, es muy importante establecer las condicio-- nes en que este compuesto puede ser tóxico y cuando es emplea-- do para la síntesis de protefna microbiana.

Es bien sabido, que cuando el amoniaco derivado del NNP produce intoxicación, el pH ruminal está alterado y puede exceder de 7.3 (53 y 156). Esto es debido a que hay una eleva-- da concentración de  $\text{NH}_3$  sin ionizar; por otra parte, el pH al-- calino impide la disociación del amoniaco, el cual es absorbi-- do rápidamente como base ( $\text{pK}_a$  para el amoniaco es de 9.25). -- En contraste, cuando el amoniaco es usado para la biosíntesis microbiana, el pH ruminal es de alrededor de 6.5 (56) y sólo hay una leve evidencia de la absorción de  $\text{N-NH}_3$  a través de -- la pared ruminal. No obstante, el epitelio ruminal no es el -- único sitio por donde puede ser absorbido el amoniaco, ya que



al tratar de correlacionar la concentración de amoníaco en rumen con la de plasma o sangre portal (178), se concluye que la concentración de amoníaco en el torrente circulatorio, es difícil de explicar sin considerar la absorción postruminal. La absorción de amoníaco entre el rumen y el duodeno ha sido comprobado en becerros (179) y ovejas (92); se piensa que la absorción tiene lugar en el omaso.

#### NECESIDADES DE ENERGIA PARA LA SINTESIS DE BIOMASA MICROBIANA:

Los requerimientos de energía para la síntesis microbiana, son elevados, pues se requiere de 3 mol de ATP para unir el amoníaco a un esqueleto de carbono y 5 mol de ATP para unir un aminoácido a una proteína en formación. En otras palabras, por cada mol de AIP se puede sintetizar hipotéticamente 13 g de proteína. Por otra parte, se tiene que la hidrólisis anaerobia de 100 g de glucosa, produce 2.2 moles de AIP y 1.3 mol de AGV's (42 y 89), teniéndose un valor para Y ATP de 15.2. Considerando que la M.S. de los microorganismos contienen en promedio 60% de proteína cruda (86 y 99), se puede concluir, que 50 g de glucosa pueden producir alrededor de -- 21.6 g de M.S. microbiana.

No obstante, Forest y Walker (77), informan que para la síntesis de 100 g de células bacterianas, se requiere de 3.62 moles de AIP, lo cual corresponde a un Y ATP de 28. La razón de las diferentes cifras reportadas para Y ATP, puede ser atribuida a la variación en el contenido de  $N_2$  de las células bacterianas, que se ve influenciado por la composición química de las bacterias, las cuales pueden almacenar -- grandes cantidades de glucosa (200). Existen pocos datos sobre la eficiencia de la síntesis microbiana, en relación a -- las diferentes fuentes de hidratos de carbono, empero, es lógico suponer que la gran variedad de microorganismos que habitan en el rumen, pueden sobrevivir gracias a que cada especie ocupa un nicho ecológico diferente, con lo cual, evitan la -- competencia entre ellos. Este concepto es apoyado por los re-

sultados obtenidos in vitro (171), en donde se demuestra que las diferentes bacterias ruminales tienen marcada preferencia por azúcares específicos. Descubrimientos similares han sido obtenidos en novillos en donde al determinar la digestibilidad aparente de varios monosacáridos, se encontró que ésta -- disminuye en el siguiente orden, galactosa, arabinosa, celulosa, glucosa y xilosa (128). En cuanto a la eficiencia de los diferentes hidratos de carbono para promover la síntesis microbiana, es aún materia de discusión; por un lado, los valores obtenidos in vivo (133), sobre los g de N<sub>2</sub> sintetizado -- por kg de materia orgánica verdaderamente digestible (MOVD) -- fueron significativamente mayores para los animales que recibieron forraje ( $\bar{X}$  33), en comparación con los animales alimentados con una elevada proporción de grano ( $\bar{X}$  22). Estos informes, contrastan con investigaciones efectuadas in vitro (23), en donde se encontró que la eficiencia para promover la síntesis de proteína aumentaba de la siguiente manera: celulosa, - almidón y almidón cocido.

En conclusión, según lo argumentado anteriormente y de acuerdo a los trabajos de Phillipson et al. (157), Robertson (168), Offer et al. (148), Stern et al. (184), los azúcares simples y el almidón, son las fuentes de energía que han resultado ser los más efectivos tanto in vivo como in vitro -- para la eficiente utilización de N<sub>2</sub> producido en el rumen y la eficiente síntesis de proteína microbiana.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION

- A) Evaluar el efecto de la adición de hidróxido de sodio (NaOH) sobre el valor nutritivo del ensilaje de caña de azúcar.
- A.1. En microsilos.
- A.2. En silos con capacidad de media tonelada.
- B) Determinar patrones de fermentación en los ensilajes (ácido grasos volátiles, ácido láctico, etanol, pH, concentración de azúcares solubles y amoníaco).
- C) Medir el consumo voluntario de la caña de azúcar fresca y caña de azúcar ensilada con y sin hidróxido de sodio.
- D) Determinar patrones de fermentación ruminal en borregos fistulados alimentados con caña de azúcar fresca y caña de azúcar ensilada con y sin aditivo.
- E) Determinar parámetros de la cinética ruminal en los borregos alimentados con caña de azúcar fresca y caña ensilada con y sin NaOH.
- E.1. Mediante el uso de polietilenglicol y cloruro de cromo-EDTA como marcadores.
- F) Evaluar el empleo de  $^{35}\text{S}$  como marcador para medir la eficiencia de la síntesis microbiana en el rumen, de los borregos alimentados con caña de azúcar fresca y caña de azúcar ensilada con y sin NaOH.
- G) Determinar la digestibilidad de la caña de azúcar fresca y caña de azúcar ensilada con y sin NaOH.
- G.1. Mediante el método de la bolsa de dacrón.
- G.2. Mediante el método convencional.

## METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION

Esta investigación fue realizada en las instalaciones de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Yucatán, en Ixmakuil, Mérida y en los laboratorios del Departamento de Producción Animal, de la División de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán", México, - D. F.

### 1. ALIMENTOS:

La caña de azúcar utilizada en el estudio se obtuvo en el ejido de Santa Rosa, Yucatán. La caña seleccionada fue de 11 meses de edad con 16°Brix.\*

La caña fue picada en un molino tipo "Chetumal", -- guardando una proporción de 70% de tallo por 30% de puntas. Inmediatamente, se procedió a llenar con este material, 2 silos de asbesto con capacidad de 500 kg cada uno. En uno de ellos, se ensiló la caña sin agregar aditivo; en tanto que el otro, se llenó con caña, a la cual se le había adicionado previamente 1.6 litros de una solución de NaOH al 50% por cada 100 kg de esta gramínea, con objeto de obtener una relación en base-seca de 97 partes de caña por 3 de NaOH. A los 30 días, los silos fueron abiertos para iniciar las pruebas de alimenta---ción, tomando inmediatamente muestras para la determinación de ácido láctico, acético, propiónico, butírico, pH, étanol, proteína cruda, amoníaco y humedad. Asimismo, se calculó el porcentaje de la materia seca perdida durante el proceso de fermentación.

\*) °Brix = sólidos totales en el jugo.

Paralelamente, usando tratamientos idénticos y con la misma materia prima, se llenaron en el laboratorio, microsilos de 3 kg de capacidad, con el objeto de abrirlos después de 1, 3, 6, 9, 15, 21 y 30 días de haber sido ensilados y de esta manera, obtener datos sobre los cambios en pH, °Brix, -- concentración de azúcares, producción de ácidos grasos volátiles y de ácido láctico.

## 2. ANIMALES:

Para la prueba biológica, se emplearon 6 borregos - adultos, machos de la raza Pelibuey, con un peso vivo promedio de 30 kg  $\pm$  5 kg, desparasitados tanto interna como externamente.

Con el fin de obtener datos sobre parámetros de fermentación ruminal, síntesis de proteína microbiana y algunos datos sobre cinética ruminal, cada uno de estos animales fue fistulado en rumen y en primera porción del duodeno. En el rumen se colocó una cánula blanda de 4 cm de diámetro; en tanto que en el duodeno, se fijó una cánula rígida en forma de T, - fabricada con P.V.C. (cloruro de polivinilo).

## 3. TÉCNICA QUIRÚRGICA:

La técnica quirúrgica escogida para fistular a los animales fue una modificación hecha a la empleada por Brown - et al. (38).

## 4. MANEJO DE ANIMALES:

Una vez recuperados de la operación, los borregos - fueron mantenidos en jaulas metabólicas con piso de rejilla - de madera. Las fistulas se inspeccionaron y limpiaron diariamente.

## 5. DIETAS EXPERIMENTALES:

Durante la investigación se usaron 3 dietas a saber:

- a) Caña de azúcar fresca.
- b) Caña de azúcar ensilada con NaOH.
- c) Caña de azúcar ensilada sin aditivo.

Dependiendo del tratamiento, cada borrego recibió diariamente a las 8:00 a.m., 3 kg de ensilado o caña de azúcar fresca, más 100 ml de una solución que contenía 30 g de urea más 6.2 g de  $\text{NaSO}_4$  (para obtener una proporción de 10 partes de nitrógeno por una de azufre). De la misma manera, se ofrecieron diariamente 5 litros de agua. Una mezcla comercial de sales minerales se ofreció ad libitum.

## 6. PERIODO EXPERIMENTAL:

Los animales se distribuyeron en dos cuadrados latinos 3x3. El experimento consistió en 3 periodos de 21 días de duración cada uno. Los primeros 14 días de cada período, se emplearon para adaptar a los animales a cada una de las dietas, los 7 restantes fueron usados para la toma de muestras.

## 7. COLECCION DE MUESTRAS:

### 7.1 Alimentos.

Las muestras de alimentos se tomaron durante 7 días consecutivos (a la par de la recolección de heces). Es decir, del 14 al 20o. día de la prueba.

Posteriormente, se recolectaron muestras de alimento ofrecido y del rechazado con el fin de determinar humedad y composición química; sin embargo, debido a que no se encontraron diferencias importantes en la composición química del alimento ofrecido y del rechazado, se optó por hacer una alícuota

final para el análisis químico del alimento.

### 7.2. H e c e s.

Después del período de adaptación, se procedió a la colección total de heces durante 7 días consecutivos; cada 24 horas las heces se pesaron y se mezclaron, tomando el 10% del peso total para hacer una alícuota final, manteniéndose en -- congelación para su análisis posterior.

### 7.3. O r i n a.

La colección de orina se efectuó paralelamente a la de las 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, 30 ml de HCl 6 N. Del volumen total de orina se tomó el 10% para una alícuota final, manteniéndose estas muestras en congelación para la determinación posterior de nitrógeno.

### 7.4. L i q u i d o r u m i n a l.

Con el fin de medir el pH, concentración de amoníaco y AGV's en el líquido ruminal, el decimotercer día de cada período experimental se extrajeron cada 60 minutos durante 12 horas seguidas 50 ml de líquido obtenido en diferentes sitios del rumen.

El pH del líquido ruminal se determinó inmediatamente. Posteriormente, de los 50 ml recolectados se tomaron 20 ml para la determinación de amoníaco, a los cuales se les adicionó un mililitro de una solución 0.2 M de HCl. A los 30 ml restantes, con el propósito de conservarlos para la determinación de AGV's, se les agregó 1.5 ml de una solución saturada de  $\text{HgCl}_2$ . Todas las muestras se mantuvieron en congelación.

Asimismo, con el objeto de calcular la síntesis de proteína microbiana en el rumen, el último día de cada período experimental, a las 3 horas de haber ofrecido el alimento, se extrajeron del rumen 1.5 litros de líquido, el cual fue colado a través de una gasa. Las partículas de alimento restantes fueron removidas por centrifugación a 1,000 g, posteriormente con el fin de precipitar las bacterias, el líquido sobrenadante -- fue centrifugado a 45,000 g por 30 minutos. La masa de bacterias obtenidas se lavó con una solución salina isotónica y se procedió a centrifugar, repitiéndose este procedimiento una -- vez más, la muestra final fue congelada.

## 8. METODOS DE ANALISIS:

### 8.1. Determinación de materia seca, materia orgánica y fracciones de fibra.

La caña de azúcar fresca y los ensilados resultantes fueron analizados según la metodología propuesta por la A.O.A. C. (12), Van Soest (196), Van Soest y Wine (195). La determinación de humedad en los ensilados se efectuó por arrastre con tolueno .

### 8.2. Determinación de la concentración de AGV's, ácido láctico y etanol.

La concentración de etanol, así como la de ácido acético, propiónico y butírico en líquido ruminal, además del ácido láctico en el caso de los ensilados, se determinó por cromatografía de gases, en un aparato Varian Aerograph (modelo 1800) siguiendo la metodología descrita por Erwing (73).



8.3. Técnica para la determinación de la proporción de la proteína dietaria en el rumen de ovejas, usando cistina o cisteína con  $^{35}\text{S}$  como marcador.

Fundamento:

Incorporación de  $^{35}\text{S}$  a la cist(e)ina de las bacterias del rumen.

Las rutas metabólicas que puede seguir el azufre endógeno e ingerido se muestran en la Figura 3.

La cantidad de sulfuro en el rumen es tomada como un parámetro clave del metabolismo del azufre, debido a que es la principal fuente de azufre para la síntesis de proteína microbiana.

Walker y Nader (201), desarrollaron un método para estimar in vitro la tasa de síntesis de proteína microbiana. La poza de sulfuro del contenido ruminal fue marcado con azufre radioactivo mediante la adición de sulfato de sodio  $^{35}\text{S}$ . La tasa de síntesis microbiana se calculó, considerando la magnitud y la dilución de la poza con sulfuro sin marcar y de la radioactividad incorporada en la proteína microbiana.

Se ha postulado, que si la poza de sulfuro de hidrógeno en el rumen es la clave del metabolismo del azufre, mediante la marcación del sulfuro con  $^{35}\text{S}$  puede ser posible cuantificar la incorporación de los aminoácidos azufrados dentro de la proteína microbiana. En una dieta sin proteína, la actividad específica de  $^{35}\text{S}$  en el sulfuro del rumen y la actividad específica de la cist(e)ina marcada con  $^{35}\text{S}$  incorporada a la proteína bacteriana es la misma, lo cual indica que todo el azufre de la cist(e)ina bacteriana proviene de la poza de azufre; es decir,

$$1 \frac{\text{Actividad específica de } ^{35}\text{S} \text{ en sulfuro del rumen}}{\text{Actividad específica de cist(e)ina } ^{35}\text{S}}$$

### Determinación de Cist(e)ina.

El método empleado está basado en la conversión de azufre de la cistina y cisteina a ácido sulfhídrico por la acción de la hidrazina; la liberación de sulfuro de hidrógeno se logra por la adición de ácido sulfúrico, este gas se acarrea mediante una corriente de nitrógeno puro, depositándolo en una solución adsorbente, posteriormente se produce una reacción coloreada que puede ser leída en el espectrofotómetro (67).

### R e a c t i v o s .

- a) Hidrato de hidrazina
- b) Solución adsorbente de sulfuro: se disuelve en -- agua destilada 50 g de acetato de zinc y 12.5 g - de acetato de sodio, aforándose a un litro (antes de usarse se filtra a través de papel Whatman #42).
- c) Solución de para-amino-dimetilanilina (PADA). en 1500 ml de agua destilada, se disuelven 2 g de -- PADA, agregando posteriormente 400 ml de ácido - sulfúrico concentrado, se afora a 2 litros.
- d) Solución de sulfato férrico de amonio. Se disuelven 25 g de sulfato férrico de amonio en 5 ml de ácido sulfúrico concentrado y se afora a 200 ml con agua destilada.
- e) Nitrógeno puro.
- f) Acido sulfúrico 3 M.

### P r o c e d i m i e n t o .

Aproximadamente se pesan 80 mg de muestra dentro de un tubo de vidrio con rosca, adicionando 1 ml de hidrato de hidrazina y 0.5 ml de agua destilada; se mezclan los reactivos cuidadosamente, enseguida se somete el tubo a una corriente de nitrógeno puro, cerrándose con una tapa de teflón y colocándo-

se en una estufa a 120 C por 18 horas. Una vez fríos los tubos se acoplan a un dispositivo de tal manera que puedan ser sometidos a una corriente de nitrógeno puro a una velocidad de 80 ml/min, acarreadose en esta forma el sulfuro de hidrógeno producido hacia la solución adsorbente de sulfato.

El ácido sulfhídrico se libera del contenido del tubo por la adición de 5 ml de ácido sulfúrico 3M, poniendo el tubo en baño maría a 70 C por 15 minutos. La solución adsorbente se prepara mediante la adición de 10 ml de solución adsorbente concentrada a 30 ml de agua destilada en un matraz volumétrico de 100 ml.

El ácido sulfhídrico se recibe durante 15 minutos dentro de la solución adsorbente. Transcurrido este tiempo, se toma 1 ml de la solución y se mezcla con líquido de centelleo NR 260.

Los isótopos se midieron en un Contador de Centelleo Beckman Modelo LS-133.

Al resto de la solución se le adicionó 10 ml de para-amino-dimetilanilina y 2 ml de sulfato férrico de amonio; estos reactivos se mezclaron perfectamente y se aforó con agua destilada.

El color azul (azul de metileno) que se desarrolla en 10 minutos, se leyó en un espectrofotómetro Baush and Lomb a 670 nm (en el rango de 0.05 mg a 1.2 mg de cisteína, la absorbancia a 670 nm es lineal). La actividad específica de la cist(e)ina marcada con  $^{35}\text{S}$ , se puede medir en una fracción o en toda la digesta del duodeno mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad específica de la muestra} = \frac{\text{Total de cuentas por minuto}}{\text{mg de cist(e)ina}}$$

La técnica de Harrison et al. (85), se basa en la hipótesis de que en ausencia de proteína en la dieta, el rango de actividad específica del aminoácido azufrado metionina, en la fracción del contenido duodenal (M) y en el total de digesta duodenal (D), es la misma. La presencia de metionina en el alimento, puede disminuir la actividad específica de la metionina marcada en el total de la digesta duodenal (D), e incrementar la relación M/D, lo cual provee una estimación de la proporción relativa de la proteína alimentaria y microbiana del contenido digestivo.

$$\text{Porcentaje de proteína microbiana en el contenido duodenal} = \frac{1}{M/10} \times 100 \quad \text{o} \quad \frac{D}{M} \times 100$$

#### 8.4. Determinación del flujo de materia seca en el duodeno.

##### R e a c t i v o s .

- a) Cloruro de cromo ( $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )
- b) Sal sódica del ácido etilen diamino tetra-acético (EDTA).

##### P r e p a r a c i ó n .

Se pesan 14.2 g de  $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  y se disuelven en 200 ml de agua, enseguida se adicionan 20 gr de EDTA disueltos previamente en 300 ml de agua, esta mezcla se calienta hasta ebullición, manteniéndose a fuego lento por una hora, hasta obtener una solución de color violeta; posteriormente se afora a un litro (35).

#### 8.5. Determinación de sesquióxido de cromo.

##### R e a c t i v o s

- a) Mezcla ácida. A 250 ml de ácido sulfúrico concentrado se le adicionan 250 ml de ácido ortofosfórico al 85% p/v, más 500 ml de agua y 50 ml de una solución al 10% de sulfato de manganeso ( $Mn SO_4 \cdot 4H_2O$ ).
- b) Solución de bromato de potasio al 4.5% p/v.
- c) Solución diluida de bromato de potasio. 50 ml de bromato de potasio al 4.5% se aforan a 500 ml de agua.

#### Procedimiento.

Pesar aproximadamente 2 g de muestra dentro de 1 matraz Pyrex de 100 ml de capacidad, calcinar durante toda la noche, dejar enfriar, añadir 5 ml de mezcla ácida, calentar y agregar 3 ml de bromato de potasio al 4.5%, dejar calentando hasta la aparición de vapores blancos de  $SO_3$ , retirar el matraz de la platina a los 45 segundos después de la aparición de los primeros vapores, dejar enfriar, adicionar 20 ml de bromato de potasio diluido, calentar nuevamente hasta ebullición por 4 minutos; una vez fría, la solución se transfiere a un matraz volumétrico de 100 ml y se afora con agua destilada. Se pipetea 10 ml de esta solución a tubos graduados de 25 ml; se agregan 4 ml de NaOH al 10%, se ponen a 41 C en baño maría para precipitar el  $MnO_2$ , dejar enfriar y aforar con agua destilada. Filtrar el contenido a través del papel Whatman # 40.

La densidad óptica de la solución se lee a 400 nm, paralelamente se corre un blanco y un estándar.

#### 9. ESTIMACION DE LA DESAPARICION DE MATERIA SECA DEL RUMEN USANDO BOLSAS DE DACRON:

La posibilidad de incubar alimentos directamente

en el animal vivo para obtener una estimación de la tasa de desaparición de los nutrimentos, fue explorada por Quin et al en 1938 (163), quienes incubaron alimento en bolsas de seda de malla muy fina dentro del rumen de borregos fistulados.

A partir de entonces, se han realizado varios trabajos para mejorar esta técnica. Las modificaciones efectuadas permiten estimar con bastante exactitud la desaparición del alimento presente en las bolsas después de su permanencia en el rumen, por diferentes periodos. Comprobándose que esta técnica provee de una fácil y rápida estimación de la tasa de desaparición de los nutrimentos en el rumen.

Siguiendo la metodología propuesta por Meherz (139, 136) y Rodríguez (169), las bolsas empleadas en el presente experimento fueron confeccionadas con tela de dacrón de las siguientes características: 2,000 orificios por  $\text{cm}^2$ , el área de cada orificio media  $2250 \text{ Um}^2$ . El tamaño de las bolsas usadas fue de 12 x 8 cm, los bordes de las mismas fueron unidos por una costura doble; asimismo, las esquinas se redondearon para evitar la acumulación del alimento.

#### P r o c e d i m i e n t o .

El décimo sexto día de cada uno de los periodos experimentales, se introdujeron en el rumen de cada borrego 5 bolsas, las que previamente habían sido lavadas y puestas a peso constante, cada bolsa contenía 3 g de muestra secada a 60 C por 8 horas, molida y pasada a través de una malla del # 20.

Las bolsas se incubaron durante 3, 6, 9, 12 y 24 horas; al final de cada uno de estos periodos se removió una bolsa del rumen de cada borrego. Las bolsas se lavaron bajo el chorro de agua, hasta que el agua de enjuague salía comple

tamente incolora, posteriormente fueron secadas a 70 C durante toda la noche.

La proporción de materia seca desaparecida, se calculó de la diferencia entre la cantidad incubada y la cantidad de materia seca que permaneció en las bolsas después de incubar.

10. DETERMINACION DE LA PROPORCION DE ACIDOS GRASOS EN EL LIQUIDO RUMINAL Y ENSILADO.

Reactivos.

- a) Mezcla desproteinizadora. Se prepara adicionando una parte de ácido crotónico 1M a 4 partes de ácido metafosfórico (25% peso/vol.).
- b) Mezcla de ácido metafosfórico (25% peso/vol.): ácido fosfórico, en relación de 3 a 1.
- c) Acido sulfúrico al 50%.

Preparación de las muestras.

Líquido ruminal.

En un tubo de centrifuga de 10 ml de capacidad, se colocan 4 ml de líquido ruminal y se añade 1 ml de mezcla desproteinizadora. La mezcla se agita bien y se deja en reposo -- por 15 minutos; posteriormente, se centrifuga a 2,500 rpm durante 10 minutos o bien hasta que el sobrenadante quede razonablemente claro. Inmediatamente después, la muestra se filtra a través de papel Whatman del #42 quedando lista para su análisis.

Preparación de la muestra para ácidos grasos volátiles (AGV's):

Se pesa aproximadamente de 2 a 3 g de muestra y se le adiciona 8 ml de agua destilada más 2 ml de la mezcla de ácido metafosfórico-formico, enseguida se agita durante 30 minutos y se centrifuga a 3,000 rpm durante media hora; posteriormente, se filtra con papel Whatman # 42.

#### 11. PREPARACION DE LA MUESTRA PARA LA DETERMINACION DE ACIDO LACTICO.

Se toma 1 ml de la muestra preparada para AGV's, se le añade 3 ml de metanol más 0.5 ml de ácido sulfúrico al 50%, la mezcla se agita y se coloca en baño maría durante 1 hora a 55 C, se deja enfriar y se le agrega 1 ml de cloroformo, se mezcla perfectamente y se analiza.

#### Condiciones de operación en el Cromatógrafo.

Flujo de N <sub>2</sub> :	40 ml/min
Presión de aire:	40 lbs/pulgada <sup>2</sup>
Presión de H <sub>2</sub> :	10 lbs/pulgada <sup>2</sup>
Temperatura	130 C

#### Inyección de las muestras.

Se utiliza una microjeringa de 10 Ul y se inyecta de 0.5 a 2 Ul de la muestra problema.

#### 11.1 Cálculo de los Resultados.

La concentración total de ácidos grasos volátiles y ácido láctico en las muestras, fue calculada mediante la suma de las lecturas del integrador para cada pico.



## 12. DETERMINACION DE AMONIACO EN LIQUIDO RUMINAL;

Reactivos.

- a) Solución saturada de tetraborato de sodio -  
(260 g de  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$  en un litro de  $\text{H}_2\text{O}$ ).
- b) Solución de ácido bórico al 1%.
- c) Solución de ácido clorhídrico 0.2 M.
- d) Solución de ácido clorhídrico 0.01 M.
- e) Indicador: 0.033% de verde de bromocresol y  
0.666% de rojo de metilo disuelto en alcohol  
absoluto.

Metodología.

Se toman 10 ml de líquido ruminal y se le agregan -  
3-4 gotas de HCl 0.2 M; esta mezcla se centrifuga a 2,000 rpm  
por 10 minutos. Del líquido sobrenadante, se toman 5 ml y se  
colocan en el embudo receptor del aparato de destilación de -  
Buchi; asimismo, se adicionan 10 ml de la solución saturada -  
de tetraborato de sodio. El embudo receptor se lava con 1-2 -  
ml de agua destilada. Por último, se cierra la entrada y se -  
procede a destilar.

Durante la destilación, la parte terminal del refri-  
gerante debe estar sumergida dentro de 10 ml de ácido bórico  
al 1% al que se le han agregado previamente 3 gotas de indica-  
dor.

El tiempo de destilación es de 2 minutos a partir -  
de que el ácido bórico se torna verde, posteriormente el con-  
densador se drena por un minuto.

El producto de la destilación se titula con HCl - -  
0.01 M.

## 13. DETERMINACION DE POLIETILENGLICOL:

Fundamento.

Sperber *et al.* (182), en sus investigaciones sobre digestión ruminal, utilizaron polietilenglicol (PEG) como sustancia de referencia. Para determinar la concentración de PEG, utilizaron un método gravimétrico, el cual tuvo poca aceptación, razón por la cual, Hyden (101) substituyó la metodología anterior usando un método turbimétrico para determinar la concentración de PEG. Esta técnica, se basa en el hecho de que al añadir ácido tricloracético a una solución de PEG, se produce turbidez, cuya intensidad puede ser medida fotoeléctricamente; el enturbamiento está dado por gotas de aceite finamente divididas, esta reacción se hace más notoria por la presencia de iones de bario.

Reactivos.

- a) Solución de goma arábiga: 3 mg/litro.
- b) Solución de cloruro de bario ( $\text{BaCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) al 10%.
- c) Solución de ácido tricloracético al 60%: pesar 60 g de ácido y disolver en 100 ml de cloruro de bario al 10% (filtrar a través de papel Whatman # 30).
- d) Solución de hidróxido de bario ( $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) 0.3N.
- e) Solución de sulfato de zinc ( $\text{Zn H}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) al 5%.
- f) Solución de polietilenglicol al 5%.

Procedimiento.

Las muestras de líquido ruminal se centrifugan a 3,000 rpm durante 5 minutos; posteriormente, el sobrenadante se centrifuga nuevamente a 18,000 rpm durante 30 minutos. Del-

sobrenadante, se toma 1 ml y se coloca en un tubo de ensayo, - agregando 10 ml de agua destilada, 1 ml de cloruro de bario al 10%, 2 ml de hidróxido de bario 0.3 M y 2 ml de sulfato de zinc al 5%; se agita y se deja reposar por 30 minutos, transcurridos los cuales se filtra a través de papel Whatman # 42, se toman 3 ml de filtrado y se le añaden 3 ml de goma arábiga y 3 ml de ácido tricloracético al 60%, se agita y se deja en reposo por 90 minutos, al cabo de los cuales se lee en el espectrofotómetro a 650 nm.

## R E S U L T A D O S

### CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE LA CAÑA DE AZÚCAR FRESCA Y ENSILADA:

Los resultados del análisis químico proximal practicado a la caña de azúcar fresca y ensilada se presentan en el cuadro III. Como se puede observar en el mismo, las diferencias percibidas en cuanto a composición química de los tratamientos, detectan diferencias significativas entre varios de los parámetros investigados, especialmente en lo que concierne a las fracciones de fibra, ya que como se señala, los porcentajes de fibra detergente neutro, celulosa, lignina y hemicelulosa, registraron después de 30 días de fermentación, un incremento en relación a la caña fresca; en tanto que el porcentaje del contenido celular disminuyó. Las diferencias significativas entre los dos ensilados se limitan al contenido de cenizas, paredes celulares, contenido celular, lignina y hemicelulosa.

### EFFECTO DEL HIDROXIDO DE SODIO SOBRE EL CONTENIDO DE AZÚCAR, °BRIX, pH Y LAS CARACTERÍSTICAS DE FERMENTACION DE LA CAÑA DE AZÚCAR ENSILADA:

En el cuadro IV y en las Gráficas 1, 2 y 3, se muestran los valores encontrados para pH, °Brix, concentración de azúcares solubles, lactato, acetato, butirato y etanol, así como amoníaco a diferentes períodos de ensilaje. En lo que se refiere a pH y °Brix, se advierte que los valores para estos parámetros se estabilizan en ambos tratamientos a partir del 90. día. Es interesante hacer notar que la reducción importante de los azúcares solubles, también ocurre hasta el 90. día, siendo esta disminución mucho más rápida en el ensilado sin aditivo, ya que en este tratamiento, la reducción de azúcares alcanza el 44% en 24 horas; en tanto que en el mismo lapso, en el ensilado con aditivo sólo se detectó una disminución del 19% en los azúcares solubles. Como se indica después del 90. día de fermentación no se encontraron diferencias entre los dos ensilados.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

C U A D R O III

COMPOSICION QUIMICA (%) DE LA CAÑA DE AZUCAR A 0 Y 30 DIAS DESPUES DE HABER SIDO ENSILADA CON Y SIN NaOH<sup>1)</sup>

	Caña de Azúcar		
	Fresca	Ensilada	
	Con NaOH	Sin NaOH	
Humedad	71.86 ± 0.89	73.63 ± 1.7	74.33 ± 2.3
Proteína (N x 6.25)	2.35 ± 0.05	2.75 ± 0.17	2.8 ± 0.12
Cenizas	3.84 ± 0.19a,d	7.03 ± 0.15b,e	4.6 ± 0.67a,b,d
Fibra detergente neutro	50.25 ± 1.34 <sup>a</sup>	59.58 ± 1.04 <sup>b</sup>	67.48 ± 1.12 <sup>c</sup>
Fibra detergente ácido	34.96 ± 1.17 <sup>a</sup>	43.13 ± 0.76 <sup>b</sup>	44.15 ± 1.4 <sup>b</sup>
Contenido celular	49.75 ± 1.34a,d	40.42 ± 0.84b,e	35.52 ± 1.32b,f
Hemicelulosa	15.29 ± 0.17 <sup>a</sup>	16.33 ± 0.36 <sup>a</sup>	23.33 ± 0.52 <sup>b</sup>
Celulosa	27.5 ± 1.22 <sup>a</sup>	31.49 ± 0.67a,b	34.2 ± 0.63 <sup>b</sup>
Lignina	6.9 ± 0.5	10.13 ± 0.38b,e	8.36 ± 0.24 <sup>a,d</sup>
Sflice	0.008 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.007 ± 0

1) En base a materia seca.

a,b,c) Para cada parámetro, valores con distinta literal, son diferentes estadísticamente ( $P \leq 0.01$ ).

d,e,f) Para cada parámetro, valores con distinta literal son diferentes estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## PRODUCTOS DE FERMENTACION:

### E t a n o l.

Se encontró que la producción de este alcohol (Cuadro IV) aumenta rápidamente en el ensilado sin aditivo, siendo su concentración después de 30 días de fermentación, significativamente superior al ensilado con NaOH.

### A c i d o l á c t i c o.

Como se puede apreciar en el Cuadro IV y la Gráfica-3, la producción de este metabolito se incrementó rápidamente en el ensilado tratado, no así en el ensilado sin tratar, estableciéndose diferencias significativas entre los 2 tratamientos a partir del 9o. día.

### A c i d o a c é t i c o.

Se detectó que la producción de este compuesto, seguía un comportamiento similar al de la producción de lactato; es decir, aumenta más rápido en el ensilado con aditivo. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

### A c i d o b u t í r i c o.

No hubo producción de butirato en el silo.

## COMPORIAMIENTO ANIMAL:

Consumo voluntario y digestibilidad. Los resultados obtenidos para estos parámetros, se encuentran registrados en el Cuadro V. Como se indica, el consumo voluntario y la digestibilidad fueron estadísticamente superiores para las dietas a

C U A D R O I V

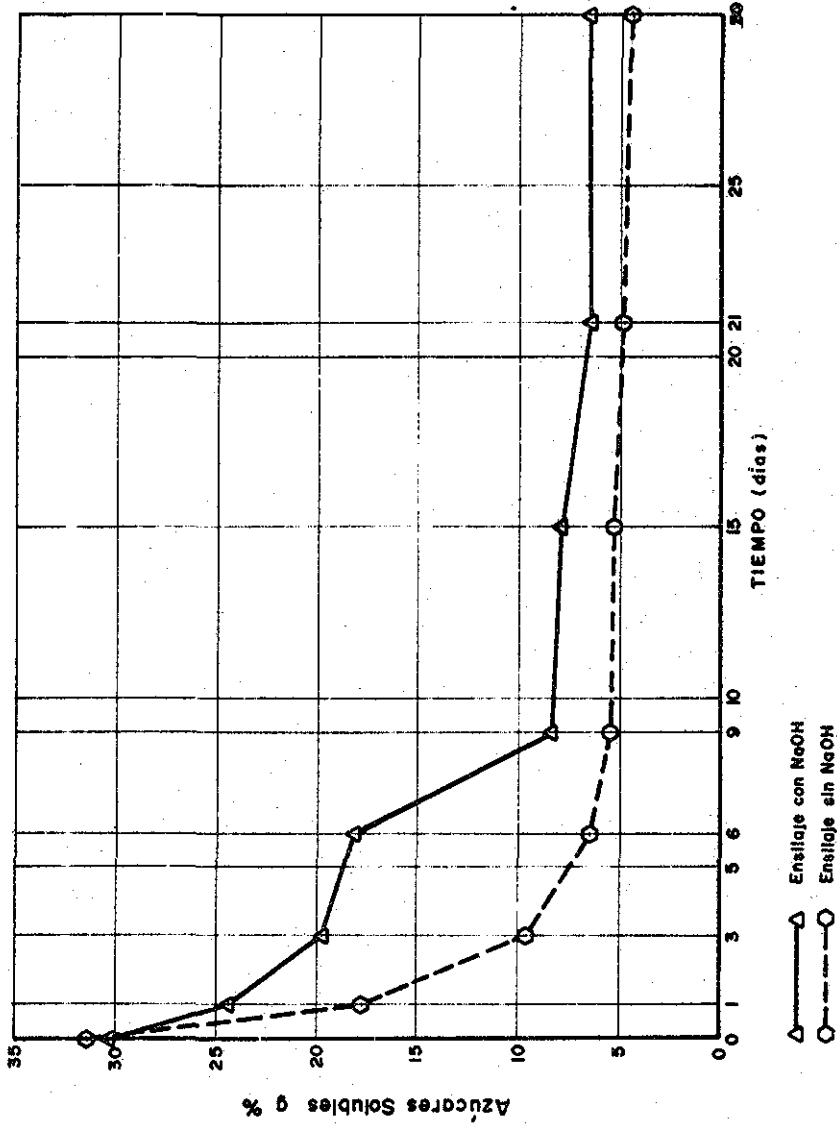
CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE LA FERMENTACION DE LA CAÑA DE AZUCAR ENSILADA CON Y SIN NaOH

	T i e m p o e n D í a s															
	Ensilaje de Caña con NaOH															
	0	1	3	6	9	15	21	30	0	1	3	6	9	15	21	30
pH	11.2 <sup>a</sup>	6.8 <sup>c</sup>	4.85	4.45	4.3	4.3	4.3	4.3	5.3 <sup>b</sup>	4.4 <sup>d</sup>	3.9	3.8	3.7	3.7	3.7	3.7
Brix	14 <sup>c</sup>	11.4 <sup>c</sup>	11 <sup>a</sup>	10.5 <sup>a</sup>	9.9 <sup>a</sup>	9.9 <sup>a</sup>	9.8 <sup>a</sup>	9.8 <sup>a</sup>	11.5 <sup>d</sup>	9 <sup>d</sup>	7 <sup>b</sup>	6.5 <sup>b</sup>	6.3 <sup>b</sup>	6.3 <sup>b</sup>	6.2 <sup>b</sup>	6.2 <sup>b</sup>
Azúcares solubles g/%	30.26	24.39 <sup>a</sup>	19.77 <sup>a</sup>	18.1 <sup>a</sup>	8.3	7.9	6.4	6.5	31.42	17.6 <sup>b</sup>	9.45 <sup>b</sup>	6.47 <sup>b</sup>	5.42	5.2	4.86	4.4
Etanol, g %	0	8.04	0.16 <sup>c</sup>	0.20 <sup>a</sup>	0.22 <sup>a</sup>	0.22 <sup>a</sup>	0.25 <sup>a</sup>	0.22 <sup>a</sup>	0	0.14	0.5 <sup>d</sup>	1.07 <sup>b</sup>	1.48 <sup>b</sup>	1.58 <sup>b</sup>	1.48 <sup>b</sup>	1.45 <sup>b</sup>
Acido láctico, g %	0	0.67	1.82	2.39	2.45 <sup>c</sup>	2.68 <sup>c</sup>	2.81 <sup>c</sup>	2.91 <sup>a</sup>	0	0.28	0.89	1.41	1.37 <sup>d</sup>	1.59 <sup>d</sup>	1.61 <sup>d</sup>	1.52 <sup>b</sup>
Acido acético, g %	0	0.18	0.38	0.58	0.61	0.64	0.69	0.66	0	0.13	0.24	0.43	0.49	0.48	0.47	0.46
Acido butírico g %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amoniaco % del N total	0	0	0	0.26	0.36	0.39	0.38	0.36	0	0	0	0.29	0.26	0.32	0.36	0.36

a, b) Para cada parámetro en el mismo período, en tratamiento diferente, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (p ≤ 0.01).

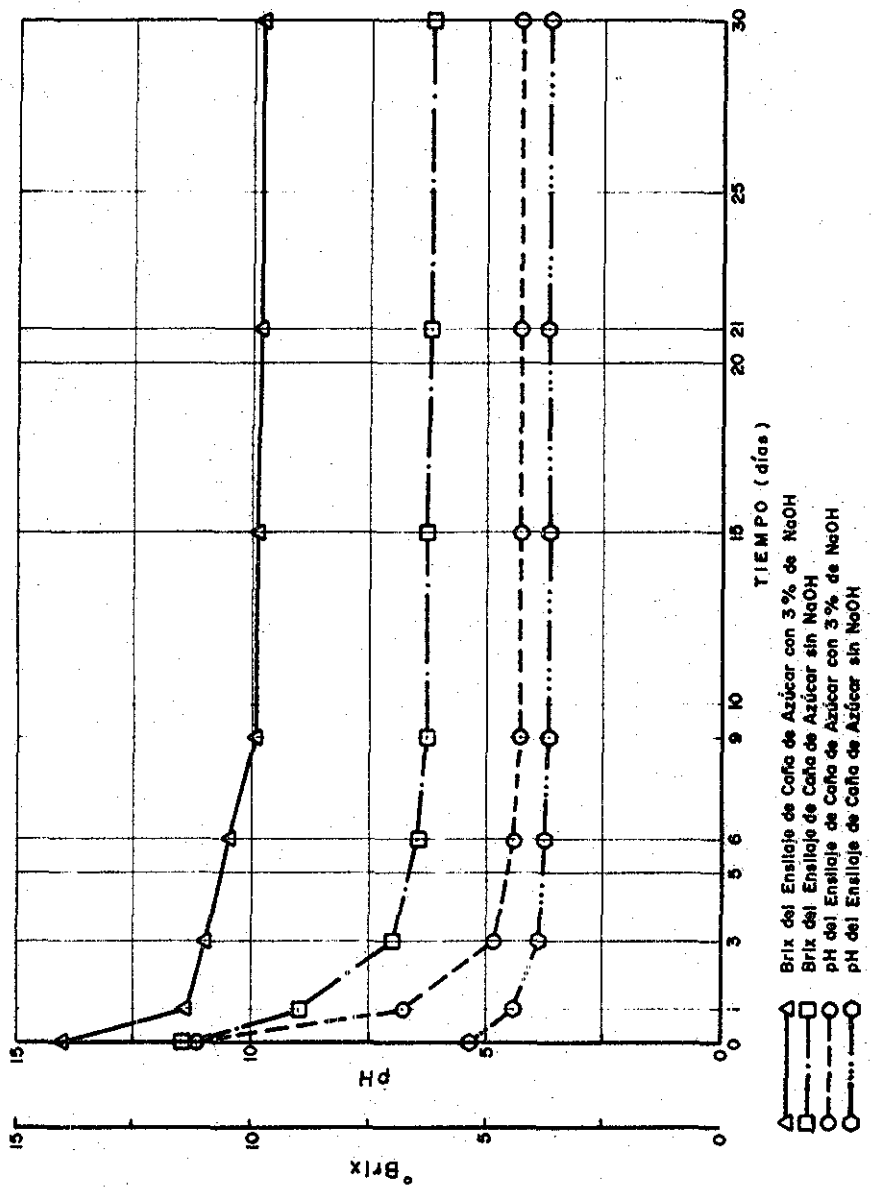
c, d) Para cada parámetro en el mismo período, en tratamientos diferentes, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (p ≤ 0.05).

Gráfica I  
CONCENTRACION (%) DE AZUCARES SOLUBLES EN LOS ENSILAJES DE CAÑA DE AZUCAR CON Y SIN NaOH



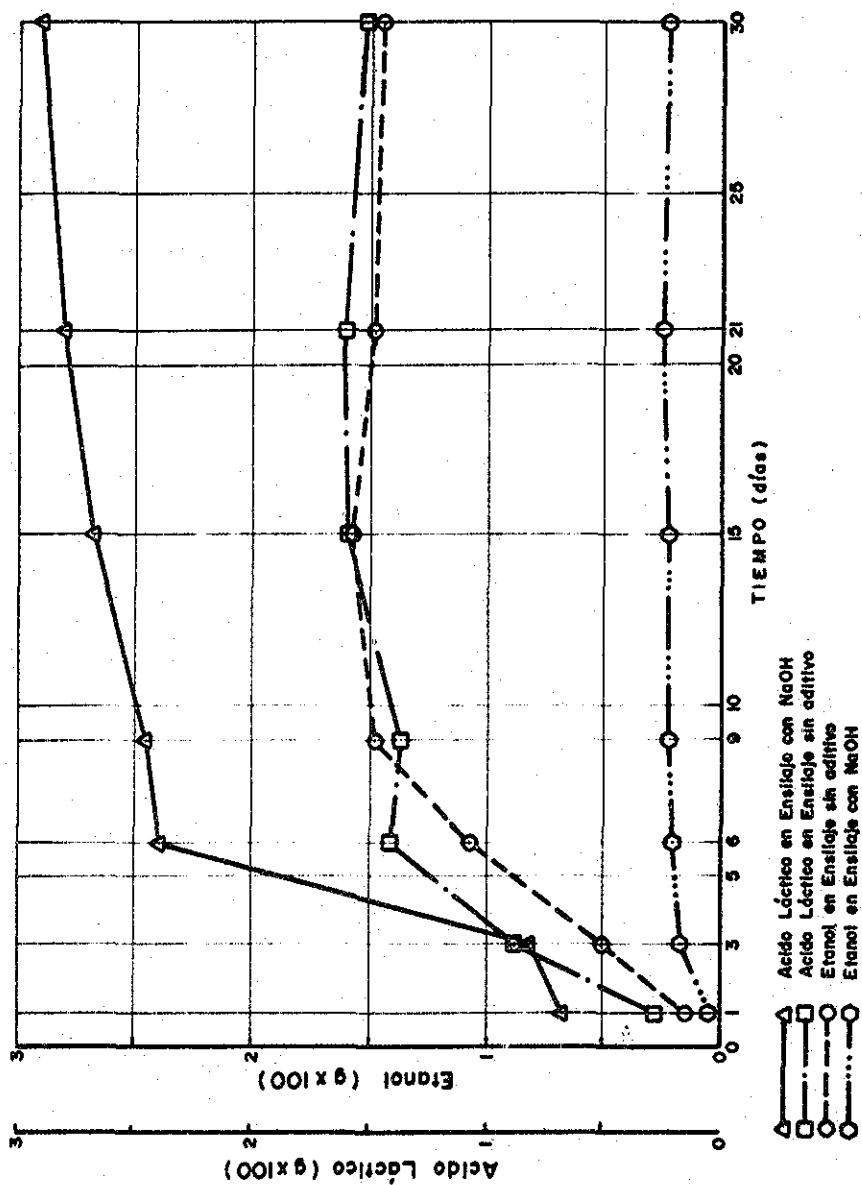


Gráfica 2  
°Brix y pH DEL ENSILAJE DE CAÑA DE AZÚCAR CON Y SIN NaOH



△ Brix del Ensilaje de Caña de Azúcar con 3% de NaOH  
□ Brix del Ensilaje de Caña de Azúcar sin NaOH  
○ pH del Ensilaje de Caña de Azúcar con 3% de NaOH  
◇ pH del Ensilaje de Caña de Azúcar sin NaOH

Gráfica 3  
 CONCENTRACION DE ACIDO LACTICO Y ETANOL EN LOS ENSILAJES



TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

C U A D R O V

CONSUMO VOLUNTARIO Y DIGESTIBILIDAD DE LA CAÑA DE AZÚCAR FRESCA Y ENSILADA CON Y SIN NaOH

T r a t a m i e n t o	C a ñ a d e A z ú c a r	
	Fresca	Ensilada Con NaOH      Sin NaOH
Consumo voluntario (Pkg <sup>0.75</sup> )	506.2 ± 58.45a	609.76 ± 104.92a    401.83 ± 51.79b
Digestibilidad (%)	66.4 ± 1.70a	65.7 ± 2.93a    55.3 ± 2.19b
Desaparición de materia seca en rumen (%) 24 horas	62.7 ± 2.44a	55.6 ± 1.76b    50.2 ± 0.59c
Tiempo medio (h)	4.97 ± 1.56a	15.20 ± 0.68b    23.96 ± 0.40c

a, b, c) Para cada parámetro, valores con distinta literal son diferentes estadísticamente ( $P \leq 0.01$ ).

base de caña fresca y caña ensilada con hidróxido de sodio, - con respecto a la caña ensilada sin aditivo.

En cuanto a la desaparición de la materia seca del alimento incubado in situ, se encontraron diferencias significativas entre los tres tratamientos siendo comparativamente más rápida la degradación de la materia seca en el caso de la caña fresca y la caña ensilada con hidróxido de sodio, que en la caña ensilada sin NaOH.

#### PARAMETROS DE FERMENTACION RUMINAL:

En el Cuadro VI y Gráficas 4 y 5 se encuentran indicados los valores promedio de las concentraciones de los productos de la fermentación ruminal. Como se puede ver, los patrones de fermentación ruminal, producidos por las tres dietas son muy similares, con excepción del acetato, el cual alcanzó una concentración menor con la dieta basada en caña fresca.

#### CINETICA RUMINAL:

Los valores obtenidos para algunos parámetros de la cinética del líquido ruminal, se presentan en el Cuadro VII. Como se señala en este renglón, no existen diferencias entre las dietas basadas en caña fresca y caña ensilada con NaOH; sin embargo, sí existieron diferencias para volumen ruminal y tiempo medio entre estos 2 tratamientos y el ensilado sin NaOH. En lo que concierne al flujo de líquidos del rumen hacia los compartimientos digestivos posteriores, se encontró que los valores para estos parámetros fueron significativamente mayores para el ensilado con NaOH; asimismo, la tasa de re cambio fue menor para el ensilado sin aditivo.

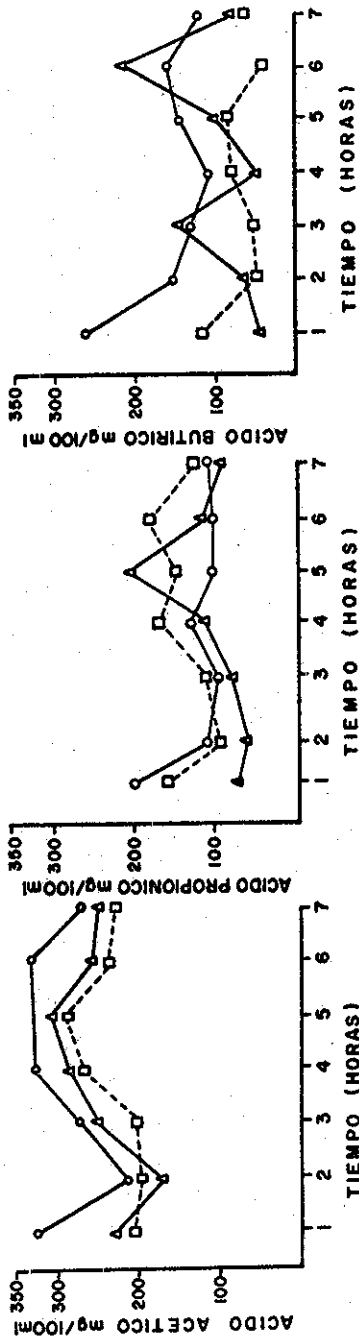
C U A D R O VI

PARAMETROS DE FERMENTACION RUMINAL EN BORREGOS ALIMENTADOS CON  
CAÑA DE AZUCAR FRESCA Y CAÑA DE AZUCAR ENSILADA CON Y SIN NaOH

T r a t a m i e n t o s	C a f i a d e A z ú c a r		
	Fresca	E n s i l a d a	
		Con NaOH	Sin NaOH
Acetato (g/%)	0.26 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.29 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.29 ± 0.05 <sup>b</sup>
Propionato (g/%)	0.13 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.13 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.12 ± 0.01 <sup>a</sup>
Butirato (g/%)	0.11 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.11 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.10 ± 0.02 <sup>a</sup>
Amoniaco (ng/100 ml)	17.37 ± 8.94 <sup>a</sup>	17.98 ± 8.57 <sup>a</sup>	18.95 ± 8.61 <sup>a</sup>
pH	6.93 ± 0.18 <sup>a</sup>	6.64 ± 0.37 <sup>a</sup>	6.73 ± 0.13 <sup>a</sup>

a,b,c) Para cada parámetro valores con distinta literal son diferentes estadísticamente (p ≤ 0.05).

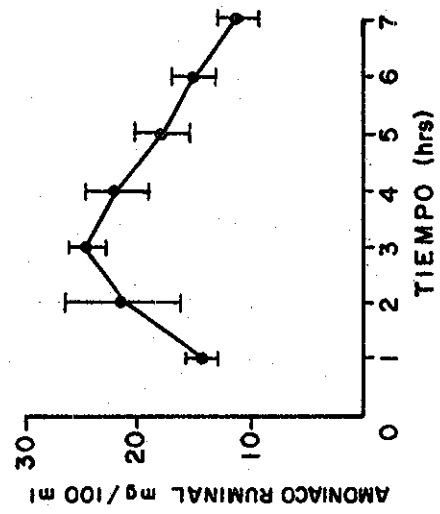
PRODUCCION DE ACIDO ACETICO PROPIONICO Y BUTIRICO EN EL RUMEN DE BORREGOS ALIMENTADOS CON CAÑA DE AZUCAR FRESCA CAÑA ENSILADA CON NaOH Y CAÑA ENSILADA SIN ADITIVO



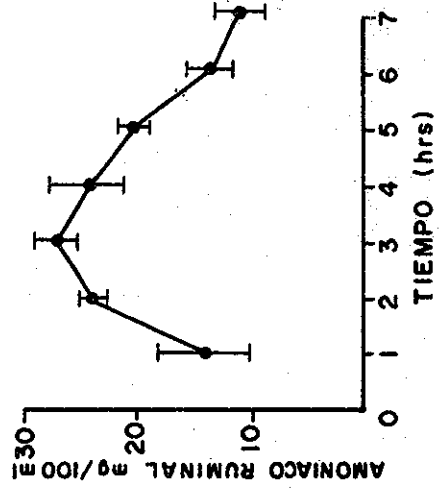
□---□ CAÑA FRESCA  
 ○---○ CAÑA ENSILADA CON NaOH  
 △---△ CAÑA ENSILADA SIN NaOH

GRAFICA 4

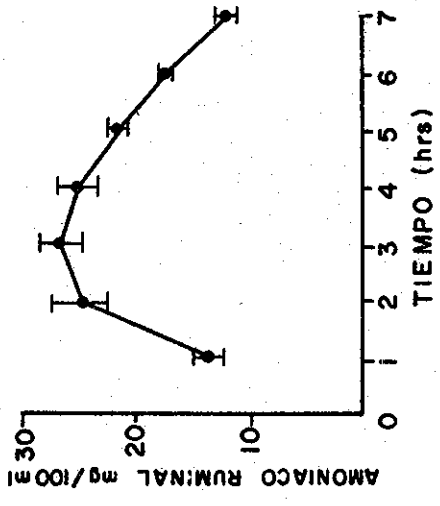
CONCENTRACION DE AMONIACO RUMINAL EN BORREGOS ALIMENTADOS CON CAÑA DE AZUCAR FRESCA Y ENSILADA SUPLEMENTADA CON UREA



DIETA A BASE DE CAÑA DE AZUCAR FRESCA



DIETA A BASE DE CAÑA DE AZUCAR ENSILADA CON UREA



DIETA A BASE DE CAÑA DE AZUCAR ENSILADA SIN ADITIVO

GRAFICA -5

C U A D R O VII

CINETICA DEL LIQUIDO RUMINAL EN BORREGOS ALIMENTADOS  
CON CAÑA DE AZUCAR FRESCA Y ENSILADA CON Y SIN NaOH

T r a t a m i e n t o	C a ñ a d e A z ú c a r		
	Fresca	En s i l a d a	
	Con NaOH	Sin NaOH	
Volumen Ruminal (l)	5.35 ± 0.86 <sup>a</sup>	5.40 ± 0.72 <sup>a</sup>	6.54 ± 0.39 <sup>b</sup>
Tiempo medio (h)	13.72 ± 0.88 <sup>a</sup>	13.41 ± 1.11 <sup>a</sup>	18.42 ± 0.43 <sup>b</sup>
Flujo (l/h)	0.19 ± 0.03 <sup>d</sup>	0.20 ± 0.04 <sup>d</sup>	0.17 ± 0.03 <sup>e</sup>
Flujo (l/24 h)	4.56 ± 1.2 <sup>d</sup>	4.83 ± 0.96 <sup>d</sup>	4.13 ± 0.61 <sup>e</sup>
Tasa de recambio (h <sup>-1</sup> )	0.87 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.89 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.65 ± 0.02 <sup>b</sup>

a,b,c) Para cada parámetro, valores con distinta literal son diferentes estadísticamente (P ≤ 0.01).

d,e,f) Para cada parámetro, valores con distinta literal, son diferentes estadísticamente (P ≤ 0.05).



Por lo que respecta al flujo de materia orgánica y nitrógeno pasando a través del duodeno de los borregos, se advierte (Cuadro VIII) que las diferencias estadísticamente significativas, se encuentran en el ensilado sin NaOH y los otros dos tratamientos. Asimismo, se encontró que la eficiencia de síntesis de proteína microbiana fue mejor con las dietas a base de caña fresca y caña ensilada con aditivo que con la dieta basada en caña ensilada sin aditivo.

C U A D R O VIII

FILJO DE MATERIA ORGANICA, NITROGENO TOTAL Y NITROGENO MICROBIANO A TRAVES DEL IDJO  
DENO DE BORREGOS ALIMENTADOS CON CAÑA DE AZUCAR FRESCA Y ENSILADA CON Y SIN NaOH.

	Caña de Azúcar		
	Fresca	Ensilada	
		Con NaOH	Sin NaOH
Materia orgánica g/24 h	270.2 ± 26.5 <sup>a,b,d</sup>	287.5 ± 23.7 <sup>a,d</sup>	237.7 ± 12.4 <sup>b,e</sup>
Nitrógeno total g/24 h	12.8 ± 3 <sup>a</sup>	12.6 ± 2.6 <sup>a</sup>	9.14 ± 3.4 <sup>b</sup>
Nitrógeno microbiano g/24 h	9.31 ± 1.8 <sup>a</sup>	9.24 ± 1.4 <sup>a</sup>	5.5 ± 1.9 <sup>b</sup>
Eficiencia de síntesis de Proteína microbiana g/100 MOD.	21.25 ± 2.4 <sup>a,d</sup>	17.92 ± 2.8 <sup>a,b,d</sup>	14.3 ± 3.6 <sup>b,e</sup>

a,b,c) Para cada parámetro, valores con distinta literal, son diferentes estadísticamente ( $P \leq 0.01$ ).

d,e,f) Para cada parámetro, valores con distinta literal, son diferentes estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ).

D I S C U S I O N  
\*\*\*\*\*

Al comparar la composición química de la caña de azúcar fresca y la caña ensilada con y sin NaOH, se puede observar (Cuadro III), que las diferencias entre tratamientos se circunscriben al contenido de cenizas, fracciones de fibra y contenido celular.

El incremento de la fracción mineral en la caña ensilada con aditivo, se puede explicar por el hecho de que este tratamiento consistió en agregar 3 partes de NaOH por 97 de caña de azúcar en base a materia seca, con lo que obviamente el porcentaje de materia inorgánica sufrió un incremento. Asimismo, se advierte que en los ensilados hubo un aumento en la recuperación de fibra detergente neutro, fibra detergente ácido, lignina, celulosa y hemicelulosa; en tanto que, el porcentaje de contenido celular disminuyó. Para explicar estos hallazgos, cabe mencionar que aunque la cantidad de constituyentes no fermentables (cenizas, fracciones de fibra), permanecen inalterables, el porcentaje de su concentración en el remanente de la materia seca del ensilado, depende de la intensidad y del tipo de fermentación sufrida por el forraje, por lo que el grado de incremento de los hidratos de carbono estructurales y el porcentaje de disminución del contenido celular en la caña ensilada, fue proporcional a las pérdidas de materia seca por fermentación, lo cual también pone de manifiesto que la adición de NaOH restringió la fermentación, protegiendo a los glúcidos fácilmente fermentables contenidos en el citoplasma celular, pues en este tratamiento, el porcentaje de fracciones de fibra fue menor que el encontrado en la caña ensilada sin aditivo, en tanto que la pérdida del contenido celular fue menor.

Por lo que respecta a las características químicas de los ensilados de la caña de azúcar (Cuadro IV) es importante tener en mente que la evaluación de los ensilados es difícil, no únicamente por las variaciones existentes en las deter

minaciones químicas y las características nutritivas del ensilado, sino también por las dificultades existentes en el muestreo y análisis, lo cual es resultado tanto de la naturaleza inestable del ensilado, como del contenido variable de sus componentes volátiles.

Como era de esperarse el pH de la caña de azúcar ensilada con álcali en un principio fue superior al de la caña ensilada sin aditivo; asimismo, se observa que en ambos tratamientos los valores para pH, no registraron variaciones a partir del sexto día, lo cual está relacionado con la actividad fermentativa del silo.

Considerando que la mayoría de los investigadores, recomiendan un pH no mayor de 4.2 y no menor de 3 (183, 203 y 207), el valor final del pH en el ensilado de caña con aditivo, podría parecer inadecuado. No obstante los valores aquí señalados son similares a los informados en otras investigaciones en donde se usaron álcalis como aditivo (43, 162, 174, 191 y 197). Asimismo, hay que considerar que la relación entre pH y calidad nutritiva es complicada ya que los pH elevados se encuentran tanto en ensilados mal conservados, que han sufrido fermentación por clostridios, como en ensilados bien conservados donde la fermentación se restringió, como es el caso que nos ocupa.

Al adicionar NaOH se incrementan los sólidos totales, lo cual ocasiona que la presión osmótica se eleve y como se indica, los °Brix se incrementan significativamente en el ensilado tratado con este álcali. El hecho de aumentar la presión osmótica es una manera indirecta de favorecer el crecimiento de lactobacilos, ya que como se informa (206), estos microorganismos, soportan mejor que cualquier otro presente en el silo, presiones osmóticas elevadas.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Como se puede advertir en el cuadro IV, en general los valores para °Brix tienden a ser superiores en el ensilado con aditivo, lo cual sugiere que en este tratamiento las pérdidas de materia seca por fermentación fueron menores que las -- del otro ensilado. Este hallazgo es apoyado por el hecho de que como se advierte, la concentración de azúcares solubles es mayor en el ensilado con aditivo, lo cual puede explicarse por el efecto inhibitorio que tiene el álcali sobre el crecimiento de levaduras, efecto que es apoyado por el bajo porcentaje de etanol y la elevada concentración de lactato registrada en la caña ensilada con NaOH; en contraste con el elevado contenido de etanol y la baja concentración de ácido láctico presente en el ensilado sin aditivo. Los valores encontrados para los parámetros señalados anteriormente, están de acuerdo con los obtenidos en investigaciones similares, donde se ha usado amoniaco e hidróxido de sodio como aditivo (82, 161, 174 y 197).

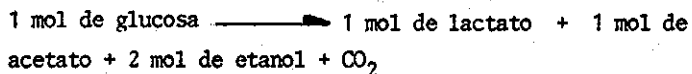
En cuanto a la producción de acetato, se señala una concentración superior de este metabolito en la caña ensilada con NaOH, esto se debe a que pese a que los lactobacilos son los que predominan en este ensilado, como se sabe, existen dos tipos de lactobacilos; a saber los que producen una fermentación homoláctica (vgr., L. plantarum) y los que producen una fermentación heteroláctica (vgr., L. brevis).

La fermentación homoláctica se efectúa a través de la ruta glicolítica, produciendo por cada molécula de glucosa 2 moles de lactato. En contraste, la fermentación heteroláctica sigue la ruta de las pentosas monofosfato resultando una -- gran variedad de productos (lactato, acetato, alcohol, etc.).

Obviamente, por los productos de fermentación detectados, en los ensilados se puede inferir que se efectuó una -- fermentación heteroláctica, siendo producida principalmente en el caso del ensilado con NaOH por lactobacilos y por levaduras y lactobacilos en el ensilado sin aditivo. En este tipo de fermentación los lactobacilos además de fermentar los azúcares a

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

lactato produjeron acetato y pequeñas cantidades de etanol, -- por ejemplo: L. brevis, desdobra a la glucosa de la siguiente manera:



Tomando en consideración lo anterior se puede explicar el por qué el ácido acético se encuentra en un porcentaje superior en la caña ensilada con aditivo.

Como se muestra, en ninguno de los ensilados hubo -- producción de butirato, lo cual significa que el ensilaje se efectuó adecuadamente ya que como es sabido, el factor predisponente de la fermentación butírica, (causada por bacterias gram negativas) es la penetración de oxígeno en las primeras etapas de la fermentación. De la misma manera, los niveles de amoníaco registrados en los ensilados, indican que no hubo desaminación excesiva y que a pesar del pH elevado de uno de los tratamientos, no hubo fermentación por clostridios. Lo anterior confirma que los silos estuvieron perfectamente sellados; indicando además que el pH alcalino no favoreció el desarrollo de esporas.

#### CONSUMO VOLUNTARIO:

Cabe recordar que en los sistemas de alimentación de ganado basados en caña de azúcar fresca, uno de los problemas más serios es el bajo C.V. del alimento. Por lo que no deja de ser sorprendente (Cuadro V), que la ingestión voluntaria -- del ensilado tratado con sosa, fue superior no solo al ensilado sin aditivo, sino incluso a la caña fresca, esto a pesar de que en la mayoría de las investigaciones se ha encontrado que el C.V. de forraje ensilado es menor que el forraje fresco -- (47, 59 y 84).

Es obvio que el mayor C.V. del ensilado con NaOH, no se puede explicar por un solo factor, sino que como cabría esperar, intervienen varios, todos los cuales actúan directa o indirectamente incrementando el C.V.. Así se tiene que pese a que no se ha demostrado de manera irrefutable que el C.V. de los ensilados se encuentre limitado por los productos de fermentación, existen evidencias de que debido al desequilibrio ácido básico que ocasiona la fermentación ácida, disminuye el C.V. de los ensilados (140, 207 y 208), por lo que una de las razones del aumento en el C.V. del ensilaje con NaOH puede ser su pH relativamente elevado (4.2) para un ensilaje. Lo anterior es apoyado por las investigaciones realizadas por Thomas et al (187), quienes encontraron que al neutralizar parcialmente el pH del ensilaje de maíz, el C.V. aumentaba; asimismo, es posible que también influya el tipo de fermentación del ensilaje, ya que Wilkins (207) al investigar el C.V. de 70 forrajes ensilados, encontró una correlación negativa entre C.V. y la concentración de amoníaco y ácido acético; así como, una correlación positiva entre C.V. y ácido láctico. Como se recordará (Cuadro IV), en el ensilado con NaOH existe una concentración superior de ácido láctico; en tanto que en el ensilado sin aditivo se encuentra la relación inversa, por lo que no puede ignorarse que la presencia de láctico en el ensilado con NaOH, puede representar un factor que coadyuva a incrementar el C.V.. Por lo que al parecer, el efecto negativo de la fermentación alcohólica, se circunscribe básicamente a la fermentación y por lo tanto disminución de los hidratos de carbono solubles, lo cual limita la eficiencia de síntesis microbiana; por lo que otro de los efectos positivos al adicionar NaOH, es el de limitar la fermentación de los hidratos de carbono, manteniéndolos disponibles para la fermentación microbiana en el rumen.

Pese a que de ninguna manera se puede soslayar la importancia que tienen los factores mencionados anteriormente para explicar el C.V. éstos únicamente pueden esclarecer satisfactoriamente en parte las diferencias entre ensilados, pero -

no las diferencias existentes entre el ensilado tratado con NaOH y la caña de azúcar fresca. En este punto es necesario hacer resaltar el efecto positivo que tiene el NaOH sobre el C.V. al solubilizar la pared celular, ya que es bien conocido que las pajas tratadas con NaOH tienen un C.V. superior a las pajas sin tratamiento, esto se debe básicamente al hecho ya comprobado de que existe una correlación positiva entre la digestibilidad y el consumo de forraje (37 y 193), por lo que el mayor C.V. del ensilado con NaOH respecto a la caña fresca puede deberse al efecto del NaOH sobre las paredes celulares; aunado al hecho de que la fibra cruda de la caña fresca tiene una digestibilidad de solo 20% (167), lo cual es un factor que ocasiona el bajo C.V. de las dietas basadas en esta gramínea, ya que se ha corroborado (167) que el bajo C.V. de la caña fresca no es debido a una carga de la capacidad fermentativa del rumen sino que se debe a la lenta tasa de digestibilidad de la fibra. El efecto del NaOH sobre la digestibilidad es evidente (Cuadro V) ya que a pesar de que una buena parte del contenido celular se ha fermentado, con la consecuente pérdida de materia seca, es un hecho que no existe diferencia entre la digestibilidad de la caña fresca y caña ensilada con NaOH.

Aunado y como consecuencia indirecta de la inhibición de la fermentación y del aumento de la digestibilidad de la pared celular en el ensilado tratado con álcali se encuentra otro factor no menos importante (Cuadro VIII), que es la eficiencia de síntesis microbiana con la caña ensilada con NaOH, parámetro que pese a ser menor que con la caña fresca, al relacionarse con el flujo de nitrógeno microbiano pasando por el duodeno, tiende a ser igual al encontrado con caña fresca. Cabe recordar que se ha reportado que el bajo C.V. de la caña está estrechamente relacionado con la disminución de precursores glucogénicos, por lo que el mayor flujo de proteína microbiana por el duodeno juega un papel clave, debido a la presencia de aminoácidos glucogénicos.



En este punto es importante hacer mención de los trabajos de Egan y Moir (63), quienes encontraron que las dietas bajas en proteína disminuyen el C.V. en tanto que la infusión de caseína en el duodeno aumenta el C.V. y la digestibilidad de la fibra cruda de la paja. El efecto de la suplementación de proteína a través del duodeno fue asociado por Egan (65), con elevadas tasas de aprovechamiento de propionato y acetato presentes en la sangre; ya que los niveles sanguíneos de estos metabolitos fueron reducidos más rápido con una dieta que contenía 11% de proteína cruda que con una que tenía 3.5% de proteína.

Egan (64), postula que la regulación del C.V. es limitado en las porciones posteriores del aparato digestivo por mecanismos diferentes del llenado del retículo-rumen, y que la suplementación de proteína puede aumentar el C.V. como consecuencia del aumento en la velocidad de remoción de la digesta del rumen alterando el mecanismo de llenado. Por lo que no existe razón para no esperar que el mayor flujo de proteína a través del duodeno en los animales alimentados con caña fresca y caña ensilada con NaOH, tenga un efecto positivo sobre el consumo voluntario.

#### DIGESTIBILIDAD:

Como se expone en el Cuadro V, los valores obtenidos "in vivo" para la digestibilidad de la materia orgánica de la caña fresca y caña ensilada con NaOH son similares; en tanto que, la digestibilidad del ensilado sin aditivo es significativamente inferior a la de estos dos tratamientos, esto es debido a que en el ensilado con NaOH el grado de fermentación de los hidratos de carbono es menor, a más de que las pérdidas de materia seca y componentes volátiles son compensadas por el incremento de la digestibilidad en la pared celular por acción del álcali, fenómeno que no ocurre en el ensilado sin aditivo,

en donde la actividad fermentativa de los microorganismos - - (principalmente la de las levaduras) es muy intensa ocasionando que la degradación de los hidratos de carbono solubles y la pérdida de materia seca por este concepto sea significativa.

Las anotaciones anteriores, se encuentran apoyadas - por los resultados de las investigaciones efectuadas por Demarquilly (59) y Harris et al. (84) quienes encontraron que en silos perfectamente sellados, la digestibilidad de la materia orgánica del forraje fresco es igual a la digestibilidad del ensilado, esto a pesar del incremento en el porcentaje de los hidratos de carbono estructurales del forraje ensilado.

En lo que concierne a la desaparición de materia seca de las bolsas incubadas en el rumen, se observa que el porcentaje de degradación a las 24 hrs es estadísticamente diferente en los 3 tratamientos, siendo en la caña fresca superior a los otros dos tratamientos y entre éstos; la degradabilidad de la materia seca del ensilado con NaOH, fue mayor a la del ensilado sin aditivo, esto es debido básicamente a que como ya se ha mencionado en la caña fresca existe una concentración de azúcares solubles superior a la de los ensilados, por lo que en este caso era de esperarse una tasa de fermentación más amplia y más rápida, en tanto que en el ensilado con NaOH la disminución por fermentación de los glúcidos solubles es compensada en parte por el incremento de la digestibilidad de los hidratos de carbono estructurales; sin embargo, la tasa de degradación de la materia seca es menor y más lenta que en la caña fresca. En lo que concierne al ensilado sin aditivo, al no existir el efecto del NaOH sobre la conservación de los azúcares e incremento de la digestibilidad de la fibra, la tasa de fermentación es menor que en los otros dos tratamientos, hecho que es expresado más claramente por los tiempos medios ( $T 1/2^h$  expresado como el tiempo que tarda en desaparecer el 50% del total de la materia seca contenida en las bolsas) calculados para cada uno de los tratamientos.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## PARAMETROS DE FERMENTACION RUMINAL:

Producción de Acidos Grasos Volátiles (AGVs).

Como se indica en el cuadro # VI, la única diferencia estadísticamente significativa encontrada en la concentración ruminal de los ácidos grasos volátiles (AGVs) entre tratamientos, se limita al acetato, el cual se encuentra en un porcentaje superior en el rumen de los borregos alimentados con caña ensilada; esto se debe a que el ácido acético proveniente del ensilado, se mezcla con el producido por la fermentación ruminal. Lo anterior es apoyado por el hecho de que la concentración de este metabolito se encuentra elevado al inicio de la ingestión del ensilado (Gráfica 4); a causa de ello la desviación estándar encontrada para este ácido graso es muy amplia, ya que el porcentaje de su concentración se afecta por el consumo periódico del ensilado. Como se advierte al calcular el porcentaje molar de la concentración de los AGVs, esta diferencia desaparece y de acuerdo con lo que cabría esperar; los valores que se presentan corresponden al tipo de fermentación producida por una dieta basada en caña de azúcar.

## CONCENTRACION DE AMONIACO:

Como ya se ha mencionado, hasta la fecha no existen niveles de concentración de amoníaco que se consideren como óptimos para lograr un máximo de síntesis microbiana, ya que esto dependerá de las condiciones particulares de cada dieta; en consecuencia las concentraciones de amoníaco reportadas como ideales para este fin, difieren considerablemente entre sí.

En el caso de dietas basadas en caña de azúcar, se ha encontrado que los requerimientos de nitrógeno por cada 100 g de materia orgánica digestible es de 3 g (161) por lo que el nivel de amoníaco en el rumen con este tipo de dietas es elevado, 20-40 mg  $N-NH_3$ /100 ml de líquido ruminal (117).

Las concentraciones de amoniaco ruminal obtenidas en esta investigación oscilan durante las 24 horas en un rango de 8 a 27 mg/100 ml (Gráfica 5), con un valor promedio de 18 mg/100 ml, por lo que caen dentro de los rangos recomendados por la mayoría de los investigadores (20 y 173).

#### pH.

El pH ruminal se mantuvo dentro de los límites fisiológicos, pero se observa que tendió a la neutralidad. Estos valores para pH son característicos de dietas altas en caña de azúcar con o sin urea, presumiblemente por la salivación excesiva. Cabe recordar que a pH elevados, el amoniaco es absorbido rápidamente en forma de base; además de que se deprime la absorción de AGVs, haciendo que la tasa de absorción sea más lenta, lo cual podría ser benéfico para el animal ya que podría metabolizar estos compuestos en una forma más lenta. En el cuadro VII se indican los valores obtenidos para volumen ruminal y tiempo medio, como se muestra en los borregos alimentados con caña de azúcar ensilada sin aditivo, fueron estadísticamente superiores a los otros dos tratamientos en consecuencia, la tasa de recambio fue significativamente menor para este tratamiento en relación a los otros dos. Estos resultados, explican en parte el por qué del bajo consumo voluntario del ensilado de caña sin aditivo, ya que como es bien conocido, dentro de los factores físicos que regulan el C.V. los más importantes son la distensión de las paredes del rumen-retículo y la tasa de pasaje del alimento a través de estos compartimentos. Este último factor está correlacionado positivamente con el aumento de la digestibilidad, debido a que la velocidad con la que pasan las partículas está determinada principalmente por la degradación física y química del alimento hasta el punto en que las partículas sean de tal tamaño y peso específico que puedan pasar a los siguientes compartimientos mediante los movimientos propulsivos del rumen. Así es como al tener un elevado volumen ruminal, obviamente se va a producir una distensión mayor en las paredes del rumen-retículo; esto, aunado a la ba-

ja tasa de pasaje y la pobre digestibilidad del ensilado sin aditivo, repercute adversamente sobre el C.V. En tanto que la tasa de recambio de la fracción líquida de las dietas basadas en caña fresca y caña ensilada con NaOH es más rápida debido a que la mayor parte del contenido digestible de la ración está en solución.

Como se advierte en el Cuadro VIII, el flujo de materia orgánica a través del duodeno no es más que el reflejo del C.V. de las diferentes dietas, siendo de acuerdo con lo que cabría esperar (por ser el tratamiento que tuvo mejor aceptación) mayor en el caso del ensilado con NaOH.

#### FLUJO DE NITROGENO:

Es importante recordar que los compuestos nitrogenados que llegan al duodeno del rumiante, comprenden proteína microbiana, proteína no degradada, ácidos nucleicos de origen microbiano, constituyentes de la pared celular de las bacterias, amoníaco y nitrógeno endógeno incluyendo enzimas proteolíticas gástricas. Por lo que resulta obligado diferenciar del nitrógeno total la proteína de origen microbiano. A este respecto, como se señala en el Cuadro VIII, los valores obtenidos para nitrógeno total y nitrógeno microbiano son similares con las dietas basadas en caña fresca y caña ensilada con NaOH, aunque estos dos tratamientos son estadísticamente diferentes para este parámetro, a la caña ensilada sin aditivo.

En lo que se refiere a la eficiencia de síntesis de proteína microbiana, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los 3 tratamientos, siendo mejor en los borregos alimentados con la caña fresca que para los alimentados con la caña ensilada y entre los ensilados, la eficiencia de síntesis microbiana fue superior con los animales alimentados con caña ensilada con NaOH. Esto se debe a que en un sistema anaerobio de cultivo como es el rumen, el principal limitante de crecimiento microbiano es la energía.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Los requerimientos de energía para síntesis de proteína microbiana son elevados, ya que hipotéticamente por cada AIP producido durante la fermentación únicamente se puede sintetizar 13 g de proteína; asumiendo que 100 g de glucosa producen 2.2 mol de ATP y 1.3 mol de AGVs (42 y 89), y que los microorganismos ruminales contienen 60% de proteína en base seca (86 y 99), se puede concluir que 50 g de glucosa producen alrededor de 21.6 g de materia seca microbiana.

En consecuencia cabe esperar que la caña fresca sea superior, ya que los azúcares de la misma representan alrededor del 50% de la materia seca que se fermenta en rumen, produciendo como es de esperarse una mayor cantidad de ATP.

En contraste los ensilajes al haber experimentado degradación de los azúcares durante la fermentación y a pesar de que con el tratamiento alcalino se solubilizan los hidratos de carbono estructurales la producción de ATP es menor, ya que de acuerdo con las investigaciones de Phillipson *et al.* (157), - - Robertson y Hawke (168) los azúcares simples y el almidón son las fuentes de energía que han resultado ser más efectivas tanto "in vivo" como "in vitro" para la eficiente utilización de  $N_2$  producido en el rumen y la eficiencia de síntesis microbiana.

## C.O.N.C.L.U.S.I.O.N.E.S

El efecto negativo del ensilaje, en el caso de la caña de azúcar radica en que durante la fermentación se reducen los precursores gluconeogénicos.

La adición de NaOH, al momento de ensilar la caña de azúcar, ayuda a conservar los azúcares totales e incrementa la solubilidad de la pared celular, lo cual se traduce en un aumento de la digestibilidad.

El consumo voluntario del ensilado de caña de azúcar con y sin NaOH, se encuentra controlado por los mismos mecanismos que regulan el C.V. de los forrajes en general, es decir, digestibilidad, tamaño de la partícula, distensión rumino-reticular, velocidad del flujo del alimento a lo largo del tracto gastro intestinal, digestión microbiana y la eficiencia de síntesis microbiana la cual depende principalmente de la disponibilidad de energía y de la presencia de nitrógeno, por lo que la máxima eficiencia de síntesis microbiana puede ser esperada si el amoníaco y los nutrimentos digestibles son provistos en iguales cantidades para la producción de ATP, esto asegura la máxima producción de proteína microbiana en un tiempo mínimo lo cual repercute necesariamente sobre la digestibilidad de la materia orgánica.

Las causas del bajo C.V. de la caña de azúcar ensilada sin aditivo son su baja digestibilidad, así como la disminución de la energía disponible para la síntesis de proteína microbiana, aunado a la baja producción de ácido propiónico en el rumen.

El efecto negativo de la fermentación alcohólica, sobre el C.V., de la caña ensilada, no se debe a la producción y presencia per se del alcohol etílico sino más que nada, a la disminución de los azúcares solubles durante la fermentación,

lo cual incide sobre la disponibilidad tanto de energía para la síntesis microbiana como de los precursores glucogénicos.

El ensilaje de la caña de azúcar con 3% de NaOH, es un método eficiente que puede emplearse con bastante éxito en la conservación de la caña de azúcar.

Se recomienda realizar una investigación en donde se considere el efecto que tiene el crecimiento de levaduras y hongos sobre el valor nutritivo del ensilado de caña de azúcar - cuando éste queda expuesto al oxígeno atmosférico, pues es muy posible que durante esta etapa, la proliferación de estos microorganismos provoque cambios significativos en la composición química y por lo tanto disminuya el valor nutritivo del ensilado de la caña de azúcar.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## LITERATURA CITADA

1. Allen, S.A. and Miller, E.L.: "The effect of urea supplementation on the nitrogen reaching the abomasum of lambs". Proc. Nutr. Soc., 31:26A (1972).
2. Allison, M.J.: "Physiology of digestion and metabolism in the ruminant". Ed. Phillipson, A.T., 456-472. Oriel Press Newcastle (1970).
3. Al Rabbat, M.F., Baldwin, R.L. and Weir, W.C.: "Microbial growth dependence on ammonia nitrogen in the bovine rumen: A quantitative study". J. Dairy Sci., 54:1162-1172 (1971).
4. Al Rabbat, M.F., Heaney, D.P.: "The effects of anhydrous ammonia treatment of wheat straw and steam cooking of aspen wood on their feeding value and on ruminal microbial activity II. Fermentable energy and microbial growth derived from ammonia nitrogen in the ovine rumen". Can. J. Anim. Sci., 58:453-458 (1978).
5. Alvarez, F.J., Sutherland, T.M. y Preston, T.R.: "Comparación de diferentes métodos de suministrar la urea en raciones basadas en caña de azúcar integral para la engorda de novillos". Prod. Anim. Trop., 1. 194-201 (1976)
6. Alvarez, F.J. y Preston, T.R.: "Amoniaco/miel y urea/miel como aditivos para caña de azúcar ensilada". Prod. Anim. Trop., 1:100-107 (1976).
7. Alvarez, F.J., Priego, A. y Preston, T.R.: "Comportamiento animal con caña de azúcar ensilada". Prod. Anim. Trop., 2:27-33 (1977).
8. Anninon, E.F.: "Microbial protein synthesis in relation to aminoacid requirements. Tracer studies on Non Protein Nitrogen for ruminants". 141-152 FAO/IAEA. (1975).

9. Anon: "Latin America Tables of Feed Composition". University of Florida (1974).
10. Arnold, G.W.: "The special senses in grazing animals. 2. Smell, taste, and touch and dietary habits in sheep". *Australian J. Agr. Res.*, 17:531-542 (1966).
11. Arnold, G.W.: "Regulation of food intake in grazing ruminants". In: *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant, Proc. Intern. Symp.*, 3rd. Cambridge, England, - 1969, edited by A.T. Phillipson. 264-276. Newcastle, England: Oriel Press (1970).
12. Association of Official Agricultural Chemists. (A.O.A.C.), 13th Ed., Washington, D.C. (1975).
13. Baile, C.A.: "Propionate as a possible feedback for control of meal size of ruminants". *Federation Proc.*, 28:491 (1969).
14. Baile, C.A. and Forves, J.M.: "Control of feed intake and regulation of energy balance in ruminants". *Physiol. Rev.*, 54:160-214 (1974).
15. Baile, C.A. and Mayer J.: "Effects of intravenous versus intraruminal injections of acetate on feed intake of goats". *J. Dairy Sci.*, 51: 1490-1494 (1968).
16. Baile, C.A. and Martin, F.H.: "Hormones and amino acids as possible factors in the control of hunger and satiety in sheep". *J. Dairy Sci.*, 54:897-905 (1971).
17. Baile, C.A. and Mayer J.: "Hypothalamic centres: feedbacks and receptor sites in the short term control of feed intake". 254-263. In A.T. Phillipson (ed.) *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant*. Oriel Press, Newcastle upon Tyne, U.K. (1970).

18. Baile, C.A. and Pfander, W.H.: "A possible chemo-sensitive regulatory mechanism of ovine feed intake". *Amer. J. Physiol.*, 210:1243-1248 (1966).
19. Baile, C.A., Mayer, J. and McLaughlin, C.: "Feeding behavior of goats: ruminal distension, ingesta dilution, and acetate concentration". *Amer. J. Physiol.*, 217:397 - 402 (1969).
20. Baldwin, R.L. and Denham, S.C.: "Quantitative and dynamic aspects of nitrogen metabolism in the rumen: A modelling analysis". *J. Anim. Sci.*, 49:1631-1638 (1979).
21. Balch, C.C. and Campling, R.C.: "Regulation of voluntary food intake in ruminants". *Nutr. Abstr. Rev.*, 32:669-686 (1962).
22. Banda. M. y Valdez, R.E.: "Efecto del estado de madurez sobre el valor nutritivo de la caña de azúcar". *Prod. Anim. Trop.*, 1:96-99 (1976).
23. Bartely, E.E. and Dehoe, C.W.: "Reducing the rate of ammonia release by the use of alternative non-protein nitrogen sources". In recent advances in Animal Nutrition. Edited by: Haresign W. and Lewis, D., 50-65. Butterworths: Boston-London (1977).
24. Beaver, D.E., Harrison, D.G., Thomson, D.J., Cammell, S.B. and Osbourn, D.F.: "A method for the estimation of dietary and microbial protein in the duodenal digesta of ruminants". *Br. J. Nutr.*, 32:99-112 (1974).
25. Beaver D.E., Thomson, D.J. and Harrison, D.G.: "Energy and protein transformations in the rumen, and the absorption of nutrients, by sheep fed forage diets". In proceedings of the 12<sup>th</sup> International Grassland Congress, Edited by: Oglovikov, V.G., 69-75 State Press, Moscow (1974).

26. Bell, F.R.: "Alkaline taste in goats assessed by the preference taste technique". *J. Comp. Physiol. Psychol.*, -- 56:174-178 (1963).
27. Ben Ghedalia, D., McMeriman, N.P. and Armstrong, D. G.: "The effect of partially replacing urea nitrogen with protein N on N capture in the rumen of sheep fed a purified diet". *Br. J. Nutr.*, 39:37-44 (1978).
28. Bensadoun, A., Paladines, O.L. and Reid, J.T.: "Effect of level of intake and physical form of the diet on plasma glucose concentration and volatile fatty acid absorption in ruminants". *J. Dairy Sci.*, 45:1203-1210 (1960).
29. Bergen, W.G.: "Rumen osmolality as a factor in feed intake control of sheep". *J. Anim. Sci.*, 34:1054-1060 (1972).
30. Bhattacharya, A.N. and Alulu, M.: "Appetite and insulin-metabolite harmony in portal blood of sheep fed high or low roughage diet with or without of intra-ruminal infusion of V.F.A.". *J. Anim. Sci.*, 41:225-233 (1975).
31. Bhattacharya, A.N. and Warner, R.G.: "Effect of propionate and citrate on depressed feed intake after intraruminal infusions of acetate in dairy cattle". *J. Dairy Sci.*, 51:1091-1094 (1968).
32. Bhattacharya, A.N. and Warner, R.G.: "Voluntary feed intake of pelleted diet for cattle, sheep and rabbits as affected by different alkali supplements". *J. Anim. Sci.*, 27:1418-1425 (1968).
33. Bines, J. A.: "Variation, in relation to feeding, in levels of certain energy-yielding metabolites in the blood of a cow receiving an all-concentrate or all-hay diet". *Proc. Nutr. Soc.*, 27:15A-17A (1968).

34. Bines, J.A.: "The effect on intake of concentrates of exchanging rumen contents between fed and unfed cows". Proc. Nutr. Soc., 46A-46B (1972).
35. Binnerts, W. T., Klooster, A.Th. and Freus A.M.: "Soluble chromium indicator measured by atomic absorption in digestion experiments". Vet. Rec., 82:470 (1968).
36. Blaxter, K.L., Graham, N. and McWainman, F.W.: "Some observations on the digestibility of food by sheep, and on related problems". Br. J. Nutr., 10:69-91 (1956).
37. Blaxter, K.L., Wainman, F.W. and Wilson, R.S.: "The Regulation of food intake by sheep". Anim. Prod., 3:51-61 (1961).
38. Brown, G.F., Armstrong, D.G. and Mac Rae, J.C.: "The establishment in one operation of a cannula into the rumen and reentrant cannulae into the duodenum and ileum of the sheep". Br. Vet. J., 124:78-82 (1968).
39. Bryant, M.P. and Robinson, I.M.: "Some nutritional characteristics of predominant culturable ruminal bacteria". J. Bact., 84:605-614 (1962).
40. Bryant, M.P.: "Nutritional requirements of the predominant cellulolytic bacteria". Fed. Proc., 32:1809-1813 (1973).
41. Bryant, A.C. and Iill, A.R.: "Metabolism of sulphur in the gastrointestinal tract". In Proc. of the IV Int. Symp. on ruminant. Physiology Sydney Australia. Edited by: Mc Donald I.W. and Warner A. C.I., 243-260. Univ. of New England Press Armidale (1974).

42. Bondi, A.: "Metabolism of protein in ruminant animals a review". Nutrition Reprts. International, 23:993-1005 - (1981).
43. Boodo, A.A., Delaitre, J.V. y Preston, I.R.: "Puntas - de caña ensiladas con diferentes aditivos". Prod. Anim. Trop., 2:188-191 (1977).
44. Bucholtz, H.F. and Bergen, W.G.: "Microbial Phospholipid synthesis as a marker for microbial protein synthesis in the rumen". Appl. Microbiol., 25:504-513 (1977)
45. Buttery, P.J. and Annison, E.F.: "Considerations of the efficiency of aminoacid and protein metabolism in animals". In Biological efficiency of protein production. - Edited by: Jones, J.G.W., 141-171. Acad. Press, London (1973).
46. Buttery, P.J. and Cole, D.J.A.: "Chemical analysis: - sources of error". Proc. Nutr. Soc., 36:211-218 (1977).
47. Campling, R.C.: "The intake of hay and silage by cows". - J. Brit. Grassland Soc., 21:41-48 (1966).
48. Campling, R.C.: "Physical regulation of voluntary intake". In: Physiology of digestion and metabolism in the ruminant. Proc. 3rd, Inter. Symp., Cambridge, England 1969. Edited by: Phillipson A.T., 226-234, Newcastle, England: Oriel Press. (1970).
49. Carpenter, P.L.: "Microbiología". Ed. Interamericana México, D.F. Segunda edición, pp. 150-158 (1969).
50. Coleman, G.S. and Hall, F.J.: "Electron microscopy of the rumen ciliate Entodinium caudatum, with special reference to the engulfment of bacteria and other particulate matter". Tissue and Cell., 1:607-618 (1969).

51. Corbertt, J.L.: "Voluntary intake of feed". Roy. Agr. Soc. Engl., 122:175-193 (1961).
52. Czerkawski, J.W.: "Methods for determining 2,6-diaminopimelic acid and 2-aminoethyl phosphonic acid in gut contents". J. Sci. Fd. Agric., 25:45-55 (1974).
53. Chalmers, M.I., Jaffray, A.E. and White, F.: "Movements of ammonia following intraruminal administration of urea or casein". Proc. Nutr. Soc., 30:7-17 (1971).
54. Chalupa, W., Clark, J., Opliger, P. and Lavker, R.: "Ammonia metabolism in rumen bacteria and mucosa from sheep fed soy-protein or urea". J. Nutr., 100:161-169 (1970).
55. Chalupa, W.: "Metabolic aspects of non-protein nitrogen utilization in ruminant animals". Fed. Proc., 31:1152-1164 (1972).
56. Chapman, H.L., Kidder, R.W., Kirk W.G., Haines, C.E., Casselman, T. W. and Le Grand, F.: "Sugarcane and its by-products for cattle feeding". Proceedings, 24:486-497 (1964).
57. Dain, J.A., A.L. Neal and R.W. Dougherty: "The occurrence of histamine and tryptamine in rumen ingesta of experimentally overfed sheep". J. Anim. Sci., 14:930-935 (1955).
58. Deinum, B., Van Es, A.J.H. and Van Soest, P.J.: "Climate nitrogen and grass. II. The influence of light-intensity temperature and nitrogen on in vivo digestibility of grass and the prediction of these effects from some chemical procedures". J. Agric. Sci., 16:217-223 (1968).

59. Demarquilly, C.: "Chemical composition, fermentation characteristics, digestibility and voluntary intake of forage silages: changes compared to the initial green forage". *Ann. Zootech.*, 22:1-35 (1973)
60. Downes, A.M. and McDonald, I.W.: "The chromium-51 complex of ethylenediamine tetraacetic acid as a soluble rumen marker". *Brit. J. Nutr.*, 18:153-162 (1964)
61. Edwards, R.A., Donaldson, E. and Lewis M.: The Edinburgh School of Agriculture Annual Report, p. 89-90 (1976).
62. Egan, A.R.: "Nutritional status and intake regulation in sheep. VI. Evidence for variation in setting of an intake regulatory mechanism relating to the digesta content of the reticulorumen". *Aust. J. Agr. Res.*, 21:735-746 (1970).
63. Egan, A.R. and Moir, R.J.: "Nutritional status and intake regulation in sheep. I. Effects of duodenal infusions of single doses of casein, urea and propionate upon voluntary intake of a low-protein roughage by sheep". *Aust. J. Agric. Res.*, 16:437-449 (1965).
64. Egan, A.R.: "Nutritional status and intake regulation in sheep. II. The influence of sustained duodenal infusions of casein or urea upon voluntary intake of low protein roughages by sheep". *Aust. J. Agric. Res.*, 16:451-462 (1965).
65. Egan, A.R.: "Nutritional Status and Intake regulation in sheep. IV. The influence of protein supplements upon acetate and propionate tolerance of sheep fed on low quality chaffed oaten hay". *Aust. J. Agric. Res.*, 16:473-483 (1965).



66. Ekern, A. and Sundstøl, F.: "Energy utilization of hay and silage by sheep". Proc. 6th Symp. Energy Metabolism, Stuttgart (1973).
67. Elliott, R.: "The significance of the dietary nitrogen: sulphur ratio in relation to microbial protein synthesis in the rumens of adult sheep". Ph.D. Thesis, 1977. - University of Newcastle upon Tyne, U.K.
68. Emery, R.S., J.W. Thomas and L.D. Brown: "Fermentation, absorption and feeding results with L(+) lactic acid monomer and polymer and DL-lactate salts". J. Anim. Sci., 25:397-401 (1966).
69. Emery, R.S., Brown, L.D. and Thomas, J.W.: "Effects of sodium and calcium carbonates on milk production and composition of milk blood and rumen contents of cows fed grain ad libitum with restricted roughage". J. Dairy Sci., 47:1325-1329 (1964).
70. Erfle, J.D., Sauer, F.D. and Manhadervan, S.: "Effect of ammonia concentration on activity of enzymes of ammonia assimilation and on synthesis of amino acids by mixed rumen bacteria in continuous culture". J. Dairy Sci., 60:1064-1072 (1977).
71. Estadísticas azucareras. Comisión Nacional de la Industria Azucarera, Unión Nacional de Productores de azúcar. México (1980).
72. Evans, R.A., Axford, F.E. and Offer, N.W.: "A method for estimating the quantities of microbial and dietary proteins flowing in the duodenal digesta of ruminants". Proc. Nutr. Soc., 34:65A (1975) abstract.

73. Erwing, E.S., Marco, G.J. and Emery, E.M.: "Volatile fatty Acid Analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography". *J. Dairy Sci.*, 44:1768-1771 (1961).
74. Paichney, G.J.: "Digestion and metabolism in ruminants". Ed. McDonald, I.W. and Warner, A.C., 277-291. University of New England Press Armidale (1975).
75. Farhan, S.M. and Thomas, P.C.: "The effect of partial neutralization of formic acid silages with sodium bicarbonate on their voluntary intake by cattle and sheep". *J. of the Brit. Grass. Soc.*, 33:151-158 (1978).
76. F.A.O., Anuario de Producción, Vol. 26, Roma (1973).
77. Forest, W.W. and Walker, D.J.: "The generation and utilization of energy during growth". *Adv. Microbiol. Physiol.*, 5:213-274 (1971).
78. Forbes, J.M.: "Hormones and metabolites in the control of food intake". In: *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*. P. 146-161. Eds. Ruckebusch and Thivend. P. Proceedings of the 5th International Symposium on Ruminant Physiology, Held at Clearmontferrand on 3rd, 7th September (1979).
79. Forsberg, C.W. and Lamb.: "Use of adenosine 4-triphosphate as an indicator of the microbiota biomass in rumen contents". *Appl. Environ. Microbiol.*, 33:528-535 (1977).
80. Gawthorne, J.M. and Nader, C.J.: "The effect of molybdenum on the conversion of sulphate to sulphide and microbial protein sulphur in the rumen of sheep". *Br. J. Nutr.*, 35:11-23 (1976).

81. Goatcher, W.D. and Church, D.C.: "Review of some nutritional aspects of the sense of taste". *J. Anim. Sci.*, -- 31:973-981 (1970).
82. González, E. y McLeod, N.A.: "Fermentación espontánea de la caña de azúcar". *Prod. Anim. Trop.*, I:82-87 - (1976).
83. Hagemister, H.: "Messungen von protozoen eiwass in darm von Wiederkauren mit hilfe von 2-aminoethyl-phosphonisch er sure (AAP) und seine bedeutung fur die eiwessversorgung". *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte.* - 27:347-354 (1975).
84. Harris, C.E. and Raymond, W.F.: "The effect of ensiling on crop digestibility". *J. Brit. Grass. Soc.*, 18:204 - 212 (1963).
85. Harrison, D.G., Beaver, D.E. and Thomson, D.J.: "Estima tion of food and microbial protein in duodenal digesta". *Proc. Nutr. Soc.*, 31:60A-61A (1972).
86. Harrison, D.G., Beaver, D.E., Thomson, D.J. and Osbourn, D.F.: "The influence of diet upon the quantity and types of amino acids entering and leaving the small intestine of sheep". *J. Agric. Sci. Camb.*, 81:391-401 (1973).
87. Harmeyer, I., Martens, H. and Holler, H.: "Incorpora - tion of <sup>35</sup>S by rumen microorganisms in vitro at various growth rates". In *tracer Techniques in studies on the use of non protein nitrogen in ruminants*. International Atomic Energy Agency, Vienna, P. 7-14 (1975).
88. Hatch, M.D. and Slack, C.R.: "Photosynthesis by sugar - cane leaves". *Biochem. J.*, 101:103-106 (1966).

89. Henderick, H.K., Demeyer, D.I. and Van Nevel, C.J.: "Tracer studies on non-protein nitrogen for ruminants". International Atomic Energy Agency, Vienna, p. 57-68 (1972).
90. Henderick, H. K.: "The incorporation of sulfate in the ruminal proteins". Arch. Int. Physiol. Biochem., 69:449 (1961).
91. Hogan, J.P.: "Quantitative aspects of nitrogen utilization in ruminants". J. Dairy Sci., 58:1164-1177 (1975).
92. Hogan, J.P. and Weston, R.H.: "The digestion of chopped and ground roughages by sheep. II. The digestion of nitrogen and some carbohydrate fractions in the stomach and intestines". Austr. J. Agric. 18:803-819 (1967).
93. Hogan, J.P. and Weston, R.H.: "Quantitative aspects of microbial protein synthesis". In Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant. Edited by: Phillipson, A.T., 474-485. Oriel Press, Newcastle upon Tyne (1970).
94. Holder, J.W.: "Chemostatic regulation of appetite in sheep". Nature, 200:1074-1075 (1963).
95. Houpt, I.R. and Houpt, K.A.: "Transfer of urea nitrogen across the rumen wall". Amer. J. Physiol., 214:1296-1303 (1968).
96. Hume, I.D., Moir, R.J. and Somers, M.: "Synthesis of microbial protein in the rumen. II. Influence of level of nitrogen intake". Austr. J. Agric. Res., 21:283-296 (1970).

97. Hume, I.D.: "Synthesis of microbial protein in the rumen. III. The effect of dietary protein" *Austr. J. Agric. Res.*, 21:305-314 (1970).
98. Hume, I.D.: "Use of  $^{35}\text{S}$  to estimate the proportion of dietary protein degraded in the rumen". In: *Tracer techniques in studies on the use of non-protein nitrogen in ruminants. II*, International Atomic Energy Agency Vienna, p. I (1975).
99. Hungate, R.E.: "The rumen and its microbes". Academic Press., New York (1966).
100. Hutton, K., Bailey, F.J. and Anninon, E.F.: "Measurement of bacterial N entering the duodenum of the ruminant using DAP as a marker". *Br. J. Nutr.*, 25:165-173 (1971).
101. Hyden, S.: "Kung Lantbrukshogskolans". *Annaler.*, 22:139-145 (1955).
102. Jackson, P., Hodgson, J. and Rook, A.F.: "The voluntary intake of acetate by dairy cows given ammonium salts of short-chain fatty acids in their drinking water". *Animal Prod.*, 10:473-481 (1968).
103. Jarrige, R., Demarquilly, C. and Dulphy, J.P.: "The voluntary intake of forages". *Vaxtodling*, 28:98-106 (1974).
104. James, L.A.: "Confith in rations as livestock". *Proc. C.I.D.A. Seminar on sugar cane as livestock feed*, p. 30-31, Barbados (1973).
105. Jones, G.M.: "Chemical factors and their relation to feed intake regulation in ruminants: a review". *Can. J. Anim. Sci.*, 52:207-239 (1972).

106. Kennedy, P.M. and Milligan, L.P.: "Effects of cold exposure on digestion, microbial, synthesis and nitrogen transformations in sheep". Br. J. Nutr., 39:105-117 -- (1978).
107. Kidder, R.W. and Kirk, W.G.: "Cattle feeding in south-Florida". Agric. Export. Sta. Bull., 360 (1941).
108. Kirk, W.G. and Crown, R.M.: "Sugarcane, Silage socked-sugarcane and carpet grass as roughages for wintering the beef herd". Florida Agric. Expt. Sta. Bull., 373 -- (1942).
109. Kitchell, R.L.: "Comparative anatomical and physiological studies of gustatory mechanisms". In wenger-gren, - Ctr. Intern. Symp. Ser. Olfaction and Taste. Edited by: Zootterman., Vol. I., 235-255. Y. Oxford: Pergamon - - (1963).
110. Kleiber, M.: "The fire of life". John, Wiley and Son, - (ed). New York (1961).
111. Kosharov, A., Vensadoun, A., Brever, L.N., Loosli, J. K., Morris, C.J., Reid, J.T. and Legg, J.O.: "Incorporation of <sup>15</sup>N-Ammonia into blood amino acids and non-protein Nitrogen of ruminants". J. Dairy Sci., 50:1714-1716 (1967).
112. Kotb, A.R. and Luckey, I.D.: "Markers in nutrition". - Nutr. Abst. Rev., 42:813-845 (1972).
113. Krazing, J.E.: "The olfaction mucosa of the sheep". - Australian J. Biol. Sci., 23:447-458 (1970).
114. Kropp, J.R., Johnson, R.R., Males, J.R. and Owens, F. N.: "Microbial protein synthesis with low quality - - roughage rations: Isonnitrogenous substitution of urea

- for soybean meal". *J. Anim. Sci.*, 46:844-854 (1977).
115. Kruger, L. and Schulze, G.: "Futteraufnahme und verzehrleistungen bei milchkvhen 111. Die Sattigungsberwertung der futtermittel". *Zuchtungskunde*, 28:438-540 (1956).
116. Leibholz, J.: "Nitrogen metabolism in sheep. II. The flow to amino acids into the duodenum from dietary and microbial sources". *Aust. J. Agric. Res.*, 23:1073-1083 (1972).
117. Leng, R.A. y Preston, T.R.: "Cafia de azúcar en la producción bovina. Limitaciones actuales, perspectivas y prioridades para la investigación". *Prod. Anim. Trop.*, I:1-22 (1976).
118. Leng, R.A. and D.J. Brett: "Simultaneous measurements of the rates of production of acetic, propionic and butyric acids in the rumen of sheep on different diets and the correlation between production rates and concentration of these acids in the rumen". *Brit. J. Nutr.*, 20:541-552 (1966).
119. Lindsay, J. R. and Hogan, J.P.: "Digestion of two legumes and rumen bacterial growth in defaunated sheep". *Australian J. Agr. Res.*, 23:321-330 (1972).
120. Ling, J.R. and Buttery, P.J.: "The simultaneous use of ribonucleic acid  $^{35}\text{S}$ , 2-6 diaminopimelic acid and 2-aminoethyl phosphonic acid as markers of microbial nitrogen entering the duodenum of sheep". *Br. J. Nutr.*, 39:165-179 (1978).
121. Lobada, H., Aranda, E., Alderete, R. y Ruiz, L.: "Consumo voluntario de caña de azúcar picada tratada con hidróxido de sodio". *Prod. Anim. Trop.*, 4:13-20 (1979).

122. Maeng, W.J., Van Nevel, C.J. and Baldwin, R.L.: "Rumen microbial growth rate and yields: effects of amino acids and protein". *J. Dairy Sci.*, 59:68-78 (1976).
123. Maeng, W.J. and Baldwin, R.L.: "Factors influencing rumen microbial growth rates and yields: effects of urea- and amino acids over time". *J. Dairy Sci.*, 59:643-647 (1976).
124. Martin, H.F. and Baile, C.A.: "Feed intake of goats and sheep following acetate or propionate injections into rumen, ruminal pouches, and abomasum as affected by local anesthetics". *J. Dairy Sci.*, 55:606-613 (1972).
125. Mathison, G.W. and Milligan, L.P.: "Nitrogen Metabolism in Sheep". *Br. J. Nutr.*, 25:351-366 (1971).
126. McAllan, A.B. and Smith, R.H.: "Degradation of nucleic acids in the rumen". *Brit. J. Nutr.*, 29:331-345 (1973).
127. McAllan, A.B. and Smith, R.H.: "Nucleic acid metabolism in the ruminant determination of nucleic acid in digesta". *Brit. J. Nutr.* 23:671-679 (1969).
128. McAllan, A.B. and Smith, R.H.: "Effect of dietary nitrogen source on carbohydrate metabolism in the rumen of the young steer". *Br. J. Nutr.*, 36:511-522 (1976).
129. McDonald, P., Sterling, A.C., Henderson, A.R., Dewar, W.A., Satrk, G.H., Davie, W.G., McPherson, H.T., Reid, A.M. and Slater, J.: "Studies on ensilage". *Edinburg, Sch. of Agr. Tech. Bull.*, 24 (1960).
130. McDonald, P. and Whittenbury, R.: "The ensilage process". In *Chemistry and biochemistry of herbage*. Edited by: Butler, G.W. and Bailey, R.W., Vol. 3; p. 33. Academic Press (1973).



131. McDonald, P., Henderson, A.R. and Ralton, J.: "Energy - changes during ensilage". *J. Sci. Fd. Agric.*, 24:827-834 (1973).
132. McMeniman, N.P.: "Aspects of nitrogen metabolism in the ruminant". PhD. Thesis, Department of Agricultural biochemistry University of Newcastle upon Tyne (1975).
133. McMeniman, N.P., Ben-Ghedalia, D. and Elliot, R.: "Sulphur and cystine incorporation into rumen microbial protein". *Br. J. Nutr.*, 36:571-574 (1976).
134. McRae, J.C.: "The use of re-entrant canulae to portion - digestive functional within the gastro-intestinal tract of ruminants". In *Digestion and Metabolism in the Ruminant*, P. 261-276, Ed. McDonald, I.W. and Warner, A.C. -- Proceedings of the IV International Symposium on Ruminants. Physiology Sydney Australia (1974).
135. Mehrez, A.Z., Ørskov, E.R. and McDonald, I.: "Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration". *Brit. J. Nutr.*, 38:437-443 (1977).
136. Mehrez, A.Z. and Ørskov, E.R.: "A study of the artificial fibre bag. Technique for determining the digestibility of feeds in the rumen". *J. Agric. Sci. Camb.*, 88:645-650 (1977).
137. Miller, E.L.: "Evaluation of foods as sources of nitrogen and amino acids". *Proc. Nutr. Soc.*, 32:79-84 (1973).
138. Montgomery, J.J., Schultz, L.H. and Baumgardt, B.R.: "Effect of intraruminal infusion of volatile fatty acids and lactic acid on voluntary hay intake". *J. Dairy Sci.*, 46:1380-1384 (1963).

139. Montpellier, F.A. y Preston, T.R.: "Digestibilidad de punta, corteza, tallo descortezado y caña de azúcar integral". *Prod. Anim. Trop.*, 2:13-17 (1977).
140. Morgan, C.A., Edwards, R.A. and McDonald, P.: "Intake and metabolism studies with fresh and wilted silages". *J. Agric. Sci. Camb.*, 94:287-298 (1980).
141. Nader, C.J. and Walker, D.J.: "Metabolic fate of cysteine and methionine in rumen digesta". *App. Microbiol.*, 20:677-681 (1970).
142. Neal, W.M.: "Digestibility of sugarcane silage". *Florida Agr. Expt. Sta. Ann. Reprt.*, p. 79 (1939).
143. Neumark, H., Bondi and Volcani, R.: "Amines Aldehydes keto acids in silages and their effect on food intake by ruminants". *J. Sci. Food Agr.*, 15:487-492 (1964).
144. Neumark, H. and Tadmor : "The effect of histamine combined with formic or acetic acid on food intake and rumen motility when infused into the omasum of a ram". *J. Agr. Sci.*, 71:267-270 (1968).
145. Nikolic, J.A.: "Evaluation of methods for estimating microbial protein synthesis in the contents of the fore stomach". In proceedings of the Second International Symposium on Protein Metabolism and Nutrition, p. 44-46, Centre for Agricultural Publishing and documentation, Wageningen, Netherlands (1977).
146. Nolan, J.V. and Leng, R.A.: "Dynamic aspects of ammonia and urea metabolism in sheep". *Br. J. Nutr.*, 27:177-194 (1972).
147. Nolan, J.V., Norton, B.W. and Leng, R.A.: "Further studies of the dynamics of nitrogen metabolism in sheep". *Br. J. Nutr.*, 35:127-147 (1976).

148. Offer, N.W., Axford, R.E. and Evans, R.A.: "The effect of dietary energy on nitrogen metabolism in the rumen of - - sheep". Br. J. Nutr., 40:35-44 (1979).
149. Ohyama, Y., Morichi, T. and Shigeiko, M.: "The effect of inoculation with Lactobacillus plantarum and addition of glucose at ensiling on the quality of aerated silages". - J. Sci. Fd. Agric., 26:1001-1008 (1975).
150. Ohyama, Y. and McDonald, P.: "The effect of some additives on aerobic deterioration of silages". J. Sci. Fd. Agric., 26:941-948 (1975).
151. Ohyama, Y., Hara, S. and Masaki, S.: "The use of caproic acid to prevent aerobic, deterioration of silages after opening, with special reference to the amounts and time of application". J. Sci., Fd. Agric., 28:369-374 (1977).
152. Ohyama, Y., Masaki, S. and Hara, S.: "Factors influencing aerobic deterioration of silages and changes in chemical composition after opening silos". J. Sci. Fd. Agric., - - 26:1137-1147 (1975).
153. Okamoto, M., Waldo, D.R., Miller, R.W. and Moore, L.A.: - "Histamine levels in forages and dry matter intake of - - heifers". J. Dairy Sci. 47:1231-1236 (1964).
154. Okorie, A.V., Buttery, P.J. and Lewis, D.: "Ammonia concentration and protein synthesis in the rumen". Proc. Nutr. Soc., 36:38A (1977) (Abstract).
155. Pate, F.M. and Coleman, S.W.: "Use of sugarcane and sugarcane by-products for finishing, cattle on pasture and in the feedlot". 10th. Annual Conference on livestock and - - poultry in Latin America I.F.A.S. Univ. of Florida, pp. - - 41A-49A (1976).

156. Pérez, C.B., Warner, R.G. and Loosli, J.K.: "Evaluation of urea-phosphate as a source of nitrogen and phosphorus of ruminants". *J. Anim. Sci.*, 26:810-819 (1967).
157. Phillipson, A.T., Dobson, M.J., Blacburn, T.H. and Brown, M.: "The assimilation of ammonia nitrogen by bacteria of the rumen of sheep". *Brit. J. Nutr.*, 16:15-21 (1962).
158. Pigden, W.J.: "La caña de azúcar descortezada como pienso un paso decisivo". *Rev. Mund. Zoot.*, No. 11:1-5 (1974).
159. Pilgrim, A.F., Gra, F.W., Weller, R.A. and Belling, C.B.: "Synthesis of microbial protein in the sheeps's rumen and the proportion of dietary nitrogen converted into microbial nitrogen". *Br. J. Nutr.*, 24:589-598 (1970).
160. Pitzen, D.F.: "Quantitative microbial protein synthesis in the bovine rumen". Ph.D. Thesis, Iowa State Univ. (1974).
161. Preston, T.R., Hinojosa, C. y Martínez, L.: "Ensilaje de la caña de azúcar con amoniaco, miel y ácidos minerales". *Prod. Anim. Trop.*, 1:124-131 (1976).
162. Preston, T.R.: "El valor de la caña de azúcar para el rumiante". *Prod. Anim. Trop.*, 2:129-145 (1977).
163. Quin, J.I., Van Der Wath, J.G. and Myburgh, S.: "Studies on the alimentary tract of merino sheep in South Africa. 4. Description of experimental technique". *Onderstepoort J. Ver. Sc. Anim. Industry*, 11:341-360 (1938).
164. Ramírez, A.: "Fish meal and NPN conversion to bacterial protein in molasses/urea diets". *Rev. Cubana Cienc. Agric.* 6:195-202 (1972).

165. Ravelo, G., McLeod, N.A. y Preston, T.R.: "Ensilaje de caña de azúcar forraje de yuca y urea". *Prod. Anim. Trop.*, 2:34-39 (1977).
166. Ravelo, G., González, F. y Hovell, F.D.: "El efecto de alimentar por fístula ruminal caña de azúcar o afrecho de trigo sobre el consumo voluntario de caña de azúcar". *Prod. Anim. Trop.*, 3:237-242 (1978).
167. Reich, J.R. and Baldwin, R.L.: "Rumen modelling: rumen input-output balance models". *J. Dairy Sci.*, 58:879-890 (1975).
168. Robertson, J.A. and Hawke, J.C.: "Effect of carbohydrate on ammonia levels in the rumen of pasture-fed cows - in rumen liquors with ryegrass extracts". *J. Sci. Food. Agric.*, 16:268-273 (1965).
169. Rodríguez, H.: "The in vivo bag technique in digestibility studies". *Rev. Cub. Cienc. Agric.*, 2:77-81 (1968).
170. Roffler, R.E. and Satter, L.D.: "Relationship between ruminal  $\text{NH}_3$  and non protein nitrogen utilization by cattle. I. Development of a model for predicting non-protein nitrogen utilization". *J. Dairy Sci.*, 58:1880-1888 (1975).
171. Russell, J.B. and Baldwin, R.L.: "Substrate preferences in rumen bacteria: evidence of catabolite regulatory mechanisms". *Appl. Environ. Microbiol.*, 36:319-329 (1978).
172. Salter, D.N., Daneshvar, K. and Smith, R.H.: "The origin of nitrogen incorporated into compounds in the rumen bacteria of steers given protein and urea containing diets". *Br. J. Nutr.*, 41:197-209 (1979).

173. Satter, L.D. and Slyter, I.L.: "Effect of rumen ammonia concentration on rumen microbial production in vitro". Br. J. Nutr., 34:199-208 (1974).
174. Silvestre, R., McLeod, N.A. y Preston, T.R.: "Cafia de azúcar ensilada con urea o amoniaco para ganado de engorda". Prod. Anim. Trop., 1:224-230 (1976).
175. Simkins, K.L., Jr., Suttie, J.W. and Baumgardt, B.R.: "Regulation of food intake in ruminants. 3. Variation in blood and rumen metabolites in relation to food intake". J. Dairy Sci., 48:1629-1634 (1965).
176. Simkins, K.L., Jr., Suttie, J.W. and Baumgardt, B.R.: "Regulation of food intake in ruminants. 4. Effect of acetate, propionate, butyrate, and glucose on voluntary food intake in dairy cattle". J. Dairy Sci., 48:1635-1642 (1965).
177. Smith, R.H.: "Synthesis of nitrogen compounds in the rumen and their subsequent digestion". J. Anim. Sci., 49:1604-1614 (1979).
178. Smith, R.H.: "Nitrogen metabolism and the rumen". J. Dairy Res., 36:313-331 (1969).
179. Smith, R.H. and McAllan, A.B.: "Nucleic acid metabolism in the ruminant amounts of nucleic acids and total and ammonia nitrogen in digesta from the rumen, duodenum and ileum of calves". Brit. J. Nutr., 25:181-190 (1971).
180. Smith, R.H.: "Nitrogen metabolism in the rumen and the composition and nutritive value of nitrogen compounds entering the duodenum". In: Digestion and metabolism in the ruminant. Ed. by McDonald and Walker, A.C., 399-415. University of New England. Publishing Unit, Armidale, Australia (1975).

181. Smith, R.H. and McAllan, A.B.: "Nucleic acid metabolism in the ruminant formation of microbial nucleic acids in the rumen in relation to the digestion on food N and the fate of dietary nucleic acids". *Br. J. Nutr.*, 24:545-556 (1970).
182. Sperber, I., Hyden, S. and Eckman, J.: "The use of polyethyleneglicol as a reference substance in the study of ruminant digestion". *Ann. Agric. Coll. Sweden*, 20:337 (1953).
183. Stallings, C.C., Townes, R., Jesse, B.W. and Thomas, J.W.: "Changes in alfalfa haylage during wilting and ensiling with and without additives". *J. Anim. Sci.*, 53:766-773 (1981)
184. Stern, M.D., Hoover, W.H., Sniffen, C.J., Crooker, B.A. and Knowlton, O.H.: "Effects of nonstructural carbohydrate, urea and soluble protein leveles in microbial protein synthesis in continuous culture of rumen contents". *J. Anim. Sci.*, 47:944-956 (1978).
185. Stern, M.D., Hoover, W.H., Summers, R.G. and Rittenburq: "Ultrastruture of rumen entodiniomorphs by electron microscopy". *J. Dairy Sci.*, 60:902-910 (1977).
186. Stern, M. D., Hoover, W.H., and Leonard, J. B.: "Ultra structure of rumen holotrichs by electron microscopy". *J. Dairy Sci.*, 60:911-917 (1977).
187. Thomas, C. and Wilkinson, J.M.: "Nitrogen and acidity as factors influencing the voluntary intake of maize silage". *Proc. Br. Soc. Anim. Prod.*, 53:67-80 (1973).
188. Thomas, J.W., Moore, L.A., Okamoto, M. and Sykes, J.F.: "A study of factors affecting rate of intake of heifers fed silage". *J. Dairy Sci.*, 44:1471-1483 (1961).

189. Thomas, J.W.: "Preservatives for conserved forage crops". *J. Anim. Sci.*, 47:722-735 (1978).
190. Thye, F.W., Warner, F.G. and Miller, P.D.: "Relationship of various blood metabolites to voluntary feed intake - in lactating ewes". *J. Nutr.*, 100:565-572 (1970).
191. Tufinio, S., Calderón, F. y Shimada, A.S.: "Efecto de la adición de hidróxido de sodio al ensilar caña de azúcar en su composición". Resúmenes de la 2a. Reunión Internacional de la Caña de azúcar en la alimentación animal, Oaxtepec, Morelos, México, (1978).
192. Van Nevel, C.J. and Demeyer, D.I.: "Determination of rumen microbial growth in vitro from <sup>32</sup>P labelled phosphate incorporation". *Br. J. Nutr.*, 38:101-114 (1977).
193. Van Soest, P.J.: "Physico-chemical aspects of fibre digestion". In digestion and metabolism, in the Ruminant. Edited by: McDonald, I.W. and Warner, A.C., 351-365 (1975).
194. Van Soest, P.J.: "Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: Voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility". *J. Anim. Sci.*, 24:834-843 (1965).
195. Van Soest, P.J. and Wine, R.H.: "Use of detergents in analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents". *J. Assoc. Off. Agric. Chem.*, 50:50-55 (1967).
196. Van Soest, P.J.: "Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for determination of fiber and lignin". *J. Assoc. Off. Agric. Chem.*, 46:829-835 (1963).



197. Viana, C.M., Shimada, S.A. y Calderón, F.: "Manipulación de la fermentación en ensilajes de caña de azúcar y su valor alimenticio para borregos". *Téc. Pec. Méx.*, No. - - 35:48-55 (1978).
198. Waldo, D.R.: "Potential of chemical preservation and improvement of forages". *J. Dairy Sci.*, 60:306-326 (1977).
199. Waldo, D.R., Miller, R.W., Okamoto, M. and Moore, L. A.: "Ruminant utilization of silage in relation to hay, pellets, and hay plus grain. I. Composition, digestion, nitrogen balance, intake, and growth". *J. Dairy Sci.*, 48:910-916 (1965).
200. Walker, D.J. and Nader, C.J.: "Rumen microbial protein synthesis in relation to energy supply. Diurnal Variation". *Austr. J. of Agric. Res.*, 21:747-752 (1970).
201. Walker, D.J. and Nader, C.J.: "Method for measuring microbial growth in rumen content". *Appl. Microbiol.*, - - 16:1124-1131 (1968).
202. Warnaars, B.C.: "Growing, of sugar cane as animal feed". C.I.D.A. Seminar on sugarcane as a livestock feed. Barbados (1973).
203. Watson, S.J. and Nash, M.J.: "The conservation of grass and forage crops". Edited by: Oliver and Boyd, Edinburgh and London (1960).
204. Weller, R.A., Gray, F.V. and Pilgrim, A.F.: "The conversion of plant nitrogen to microbial nitrogen in the rumen of the sheep". *Brit. J. Nutr.*, 12:421-429 (1958).
205. Weston, R.H. and Hogan, J.P.: "The digestion of chopped and ground roughages by sheep. I. The movement of digest through the stomach". *Austr. J. Agric. Res.*, 18:789-801 - (1967).

206. Wieringa, G.W.: "Some factors affecting silage fermentation. II. Influence of degree of laceration and bacterial flora from the grass". Neth. J. of Agric. Sci., 7:237-241 (1959).
207. Wilkins, R.J., Hutchinson, K.J., Wilson, R.F. and Harris, C.E.: "Interrelationships between silage composition and intake". J. of Agric. Sci. Cam., 77:531-537 (1971).
208. Wilkins, R.J.: "The nutritive value of silage". Nutrition Conference for feed manufacturers: 8. Edited by: -- Swan, H. and Lewis, D., 167-190. University of Nottingham, London, Butterworths (1974).