



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y SALUD ANIMAL**

**EFFECTO DEL TAMAÑO DE LA PARTÍCULA DE FORRAJE SOBRE LA  
DIGESTIBILIDAD APARENTE DE FÓSFORO EN OVEJAS EN MANTENIMIENTO**

**TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS**

**PRESENTA:**

**JIMENA ALDONZA GARCÍA ASIAIN**

**TUTOR PRINCIPAL: Dra. Aurora Hilda Ramírez Pérez, FMVZ**

**COMITÉ TUTORAL: Dr. Luis Corona Gochi, FMVZ**

**Dr. Manuel González Ronquillo, UAEM**

**Ciudad de México, Mayo 2016**



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.

Este trabajo fue financiado por el proyecto PAPIIT IN **214309 “Estudio del efecto de la materia prima y del tamaño de partícula de forraje sobre la utilización digestiva y metabólica del fósforo en ovinos y caprinos para ayudar a disminuir su excreción y el impacto ambiental”**, bajo la supervisión de la Dra. Aurora Hilda Ramírez-Pérez.

## **DEDICATORIA**

A mis padres, por darme la vida, apoyarme tanto física como económicamente e intentar enseñarme a vivir.

Papá, espero que donde sea que te encuentres, no estés defraudado.

Mamá, no hay suficientes palabras para agradecerte todo lo que hiciste y haces por mí, tu apoyo, amor, por no dejarme caer, gracias.

A mi hermano, por todo el apoyo incondicional que he recibido de él a lo largo del tiempo, te quiero.

A toda mi familia, sin la cual no habría salido adelante.

A TI que eres tan importante en mi vida y de quien he aprendido mucho, tanto personal como profesionalmente, este trabajo también es tuyo, porque sin ti no habría seguido.

Toga<sup>†</sup>, Orejas<sup>†</sup>, Tacha, Rodo<sup>†</sup>, Pusin, Camila, Periquín 1<sup>†</sup> y 2, Tingo, Tango y Benito.

A las borregas que formaron parte de este estudio experimental y de mi vida, ya que sin ellas no hubiera obtenido este trabajo.

Y finalmente me la dedico a mí. En el transcurso de este trabajo, así como en la vida, ocurren altibajos que nos enseñan a madurar y valorar lo que se tiene, pero sobretodo la VIDA. Me di por vencida y por un momento decidí no continuar, pero el cariño y apoyo de mi familia y amigos me recordó que soy muy afortunada por tenerlos. El camino no ha sido fácil y aún me falta tiempo para salir del hoyo en el que estoy, pero sé que con su ayuda saldré. Por fin estoy entendiendo que lo triste no es morir, lo triste es no vivir intensamente.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme formar parte de ella. A CONACYT, por el apoyo económico durante mi posgrado. A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México, por permitirme realizar el trabajo experimental en sus instalaciones. A los Departamentos de Nutrición Animal y Bioquímica de la FMVZ-UNAM y FMVZ-UAEM por permitirme usar sus instalaciones. A la Química Águeda García Pérez y al personal técnico del Laboratorio de Bromatología del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la FMVZ-UNAM, por su apoyo con el procesamiento de las muestras.

A la Dra. Aurora Hilda Ramírez Pérez por darme la oportunidad de trabajar con ella sin siquiera conocerme y por todo el conocimiento, enseñanzas, apoyo y cariño brindado a lo largo de este trabajo.

A mi comité tutorial: Dr. Luis Corona Gochi por compartirme su conocimiento, enseñanzas y apoyo a lo largo de este posgrado. Dr. Manuel González Ronquillo, no tengo palabras para agradecerle todo lo que ha hecho por mí; en verdad muchas gracias doc.

A mi honorable jurado conformado por: Dra. Silvia Elena Buntinx Dios, Dra. Aurora Hilda Ramírez Pérez, Dra. Ofelia Mora Izaguirre, Dra. María Esther Ortega Cerrilla y el Dr. Roberto Montes de Oca Jiménez.

A los trabajadores y vigilantes de la UAEM y de la Posta, especialmente a don Sabino por toda su ayuda.

Fernando Ramírez Castro, por tu apoyo y presión para terminar este trabajo.

Andrea, Mitzi y Lulú, gracias por su compañía, amistad, apoyo y, sobretodo, esas noches de café, sin las cuales no habría terminado.

Karina Barrera, sin tu ayuda y tus contactos no habría sobrevivido en Toluca.

Kesia, gracias por tu amistad y ayuda en el laboratorio.

Enrique de la Fuente, me has ayudado tanto desde la carrera hasta la maestría: quién hubiera dicho que ese indocumentado se convertiría en mí mejor amigo.

Aldo, gracias por tu amistad y enseñanzas, al igual que Gloria y Fran. Eduardo M. Cabrera, agradezco tu apoyo al ir hasta la UAEM y ayudarme con mis borregas.

Dr. Roberto C. Gutiérrez Zamora, mi médico de cabecera, sin el cual no habría resistido el trabajo experimental.

Dr. Alejandro Vargas, gracias por su amistad y apoyo moral; me es muy grato reencontrarlo.

Dr. Héctor Pinedo, sin usted no seguiría aquí.

## Contenido

DEDICATORIA .....	III
AGRADECIMIENTOS .....	IV
Resumen .....	1
Abstract.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
Revisión de literatura.....	4
Producción mundial y nacional de ovinos .....	4
Generalidades sobre los minerales.....	4
Ciclo del Fósforo .....	6
Fósforo.....	6
Metabolismo del fósforo en el rumen.....	7
Protozoarios.....	11
Hongos.....	12
Intestino.....	13
Concentración de fósforo en la sangre y la saliva.....	15
Excreción urinaria de fósforo.....	16
Regulación de la absorción de fósforo.....	18
La alimentación y la importancia del fósforo .....	21
Tamaño de partícula del forraje.....	24
Eficiencia en la absorción de fósforo dietario .....	24
Fósforo y medio ambiente.....	25
2. JUSTIFICACIÓN.....	30
3. HIPÓTESIS.....	30
4. OBJETIVOS .....	30
Objetivo general: .....	30
Objetivos específicos: .....	30
5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	30
Localización.....	30
Animales .....	31
Manejo quirúrgico .....	31
Alimentación.....	32
Manejo .....	33

Pruebas de digestibilidad .....	34
Análisis de laboratorio.....	35
<i>Muestras del alimento ofrecido, rechazado y heces</i> .....	35
<i>Muestras de orina</i> .....	35
Cálculos y análisis estadísticos.....	36
6. RESULTADOS.....	37
Peso vivo.....	37
Consumo y digestibilidad de nutrimentos.....	38
Balance de N.....	38
Calcio y fósforo.....	41
7. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES .....	48
Conclusiones .....	52
8. REFERENCIAS.....	53



## **Efecto del tamaño de la partícula de forraje sobre la digestibilidad aparente de fósforo en ovejas en mantenimiento**

### **Resumen**

El presente estudio buscó precisar la disponibilidad digestiva del fósforo alimentario total (Pt) y su variación en las concentraciones en heces y orina en ovejas en etapa de mantenimiento en respuesta a la diferencia en el tamaño de partícula del forraje. Para ello, se cuantificó la ingestión y la excreción de P, acoplando las mediciones a tres periodos de digestibilidad aparente. Se utilizaron seis ovejas Suffolk adultas ( $42 \pm 6$  kg peso vivo, PV), que se alojaron en jaulas metabólicas, donde recibieron una alimentación con heno de avena (90 g materia seca/kg PV<sup>0.75</sup>) y de concentrado (maíz molido, harina de soya y premezcla de microminerales; 17.7 g/kg materia seca, MS), misma que cubrió sus requerimientos nutrimentales. El único factor de variación en la dieta fue el tamaño de partícula del heno de avena: partícula chica (C, 2.54 cm), mediana (M, 5.08 cm), y grande (G, en greña). Se utilizó un diseño de doble cuadrado latino 3 x 3. Se realizaron tres periodos de digestibilidad aparente, cada uno de tres semanas, dos para la adaptación a la dieta (día 1 a 14) y una (día 15 a 21) para la toma de muestras. Se midió el consumo y el rechazo de alimento, así como la excreción de heces y orina diariamente. En las muestras se determinó el contenido de Humedad, materia seca (MS), materia orgánica (MO), energía bruta (EB, Mcal/kg MS), proteína cruda (PC, N × 6.25), fibra detergente neutro (FDN), Ca y P total. Los resultados mostraron que la digestibilidad de la MS, MO, PC, FDN y energía, así como la excreción de P en ovejas en mantenimiento no fueron afectadas ( $P > 0.05$ ) por el tamaño de partícula del forraje. Algunas relaciones entre variables involucradas con el balance de P fueron confirmadas.

**Palabras clave:** Fósforo, metabolismo, digestibilidad aparente, ovinos.

## Effect of forage particle size on the apparent digestibility of phosphorus in sheep at maintenance

### **Abstract**

The objective of this study was to learn more about the effect of forage particle size on the digestive availability and faecal and urinary excretion of P in maintenance sheep. The intake and excretion of P were quantified by apparent digestibility technique. Three periods of apparent digestibility were carried out using six adults Suffolk sheep ( $42 \pm 6$  kg live weight, PV), which were arranged in a double Latin square design  $3 \times 3$ . Ewes were housed in metabolic cages, where they received a diet based on oat hay (90 g DM / kg  $PV^{0.75}$ ) and concentrate (ground corn, soybean meal and premix of trace minerals; 17.7 g/kg DM). This ration satisfied sheep nutritional requirements. The only factor of variation in the diet was the particle size of the oat hay: small particle (C, 2.54 cm), medium (M, 5.08 cm) and large (G, unprocessed hay). Three apparent digestibility trials of three weeks each one were performed; two weeks were for adaptation to the diet (day 1 to 14) and one week (day 15 to 21) for taking samples. Intake and rejection of feeds were weighed every day. Faecal and urinary daily excretions were also quantified. In samples moisture content, dry matter (DM), organic matter (OM), gross energy (GE, Mcal / kg DM), crude protein (CP,  $N \times 6.25$ ), neutral detergent fiber (NDF), Total Ca and P were determined. The results showed that the digestibility of DM, OM, CP, NDF and energy were unaffected ( $P > 0.5$ ) by forage particle size. Digestible and retained P were too unaffected by forage particle size. Relationships between variables concerning to P utilization by the animal were confirmed.

**Keywords:** Phosphorus, metabolism, digestibility, sheep.

## **1. INTRODUCCIÓN**

El fósforo (P) fue descubierto en 1669 y desde entonces se han realizado numerosas investigaciones sobre su esencialidad para los vegetales y animales. En 1968, se identificó que el P y el nitrógeno (N) estaban relacionados con el proceso de eutrofización del agua y las investigaciones sobre ese elemento se reanudaron. Dada la importancia metabólica del elemento, la sobrealimentación fosforada ha sido una práctica común en la industria pecuaria, por lo que los costos de las raciones por este concepto se han incrementado. Lo anterior es también efecto del agotamiento de las reservas mundiales de fosfatos. Así, el P resulta el elemento más costoso de la alimentación mineral, lo que aumenta la relevancia de las investigaciones. Así, los excesos de P y N en los efluentes de las unidades de producción pecuarias están considerados como contaminantes de los recursos hidrológicos, cuya aplicación irracional fomenta su desperdicio. En la ganadería lechera han disminuido las recomendaciones de alimentación fosforada. Sin embargo, la investigación en pequeños rumiantes es escasa, razón por la cual se requiere generar mayor información sobre los aspectos digestivos y metabólicos del P en estas especies.

En México, la población ovina es de 8, 575, 908 cabezas (FAO, 2014). La mayor parte de ellas está bajo sistemas intensivos o mixtos, donde regularmente se suplementa con alimentos concentrados. Además, en algunos casos se incluye un complemento mineral con alguna fuente de P. La intensificación de las producciones ocasiona la acumulación excesiva de estiércol, cuyo contenido de P puede llegar a contaminar los mantos freáticos. Además del problema de la eutrofización, debe tomarse también en cuenta el incremento en el costo de los fosfatos.

## **Revisión de literatura**

### **Producción mundial y nacional de ovinos**

Los ovinos (*Ovis aries*) se domesticaron desde hace más de 7,000 años. Desde entonces, se han producido en diferentes formas, principalmente bajo sistemas de pastoreo. Los lugares con mayor producción ovina son China, Australia, Nueva Zelanda, Oriente Medio, Reino Unido y España (FAO, 2009).

De la población mundial ovina, 55% se localiza en los países en vías de desarrollo. Los pequeños rumiantes representan una alternativa para la producción agropecuaria en las áreas marginales, ya que se obtienen productos y subproductos destinados al autoconsumo o a mercados próximos, lo que apoya a la economía familiar con ingresos complementarios. (FAO, 2009).

En México, los estados con mayor producción ovina son: el Estado de México, Hidalgo, Veracruz, Oaxaca, Puebla y San Luis Potosí. El sistema de producción predominante es el pastoreo diurno en grama nativa y en terrenos de cultivo después de la cosecha, con encierro nocturno para proteger al rebaño. La suplementación alimenticia es escasa o nula, pero cuando se utiliza, se basa principalmente en rastrojo de maíz.

La producción ovina tiene características regionales; en el norte del país, se encuentran sistemas de pastoreo tecnificados –que ocupan, por lo regular, grandes extensiones– o estabulados altamente tecnificados e intensivos. En la región centro, la producción se basa en agostaderos de zonas áridas o semiáridas y en terrenos agrícolas, en donde se utilizan los residuos de las cosechas; mientras que en la región sur-sureste se emplea principalmente el pastoreo extensivo (Medrano, 2000).

### **Generalidades sobre los minerales**

Los minerales se clasifican en macro y microminerales. Los macrominerales son calcio (Ca), fósforo (P), sodio (Na), magnesio (Mg), cloro (Cl), azufre (S) y potasio (K); mientras que los

microminerales son cobre (Cu), cinc (Zn), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), hierro (Fe), cobalto (Co), yodo (I), selenio (Se) y cromo (Cr) (Villanueva, 2010).

Todas las formas de materia viva necesitan elementos inorgánicos para sus procesos vitales, tanto en sus formas elementales como incorporados en compuestos específicos. Los minerales representan el 4% del peso de un organismo vivo. Sus funciones en el organismo son estructurales y reguladoras y están interrelacionadas, de manera que rara vez se les puede considerar como elementos individuales con funciones independientes. Ejemplo de esto es la relación entre el Ca y el P en la formación de huesos y dientes o las relaciones del Fe, Cu y Co en la vitamina B<sub>12</sub>, en la síntesis de hemoglobina y en la formación de glóbulos rojos (Hays y Swenson, 1993). Los minerales forman parte de tejidos duros –como hueso y dientes–, de los tejidos blandos y de los fluidos; regulan la transmisión neuromuscular, la permeabilidad de las membranas celulares y el equilibrio ácido – base. Asimismo, forman parte de las enzimas, regulando el metabolismo (Duke's, 1999).

La biodisponibilidad es la fracción de un mineral que después de ser ingerido, es absorbida, retenida y utilizada para la función fisiológica a la que está destinada. Esta fracción está afectada por muchos factores, tanto extrínsecos como intrínsecos al individuo, a saber: la presentación del mineral, su interacción con otros nutrimentos o con componentes presentes en los alimentos, la edad del individuo, el sexo, el estado fisiológico, el estado nutrimental o la existencia de un estado patológico o su tratamiento (Godoy y Chicco, 2005).

Los trastornos nutricionales causados por elementos minerales pueden surgir por deficiencias o excesos de uno o más elementos y están condicionados por el grado en que otros nutrimentos orgánicos o inorgánicos estén presentes en la dieta. Estos factores condicionantes pueden ser un reflejo de los suelos en los que crecen las plantas o estar relacionados a la presencia de plantas específicas (Hays y Swenson, 1993).

## **Ciclo del Fósforo**

En la naturaleza el P se encuentra unido fuertemente al oxígeno y a otros elementos químicos, formando los fosfatos, que son esenciales para todos los procesos biológicos. El P es tomado por las plantas como fosfatos y los herbívoros los ingieren con el consumo de los vegetales. El retorno del elemento al suelo se lleva a cabo por las excreciones y la descomposición de la materia orgánica. Una parte de los fosfatos es arrastrada por el agua hacia el mar, donde lo toman peces y algas. Los restos de estos organismos marinos liberan el P como ortofosfatos, cuando son descompuestos, dando lugar en el fondo del mar a depósitos fosfatados que afloran por movimientos orogénicos.

La disponibilidad de P en el sistema suelo-planta-animal desempeña un papel fundamental en la productividad, ya que la deficiencia de este elemento en el suelo provoca una marcada reducción en el crecimiento y la calidad del forraje, lo que repercute al final de la cadena, en el estado de salud del animal (Barrios *et al.*, 2010).

## **Fósforo**

En el organismo, la mayor parte del P (80-85%) está localizado en los dientes y huesos, y el restante (15-20%), en los demás órganos, realizando diferentes funciones (McDowell, 1997). Se presenta acompañado del Ca y la falta de uno de ellos en la alimentación limita la utilización del otro. Los fosfatos son importantes reguladores de varios procesos, como la mineralización esquelética; son componentes de ácidos nucleicos, proteínas receptoras y de transporte, coenzimas y forman parte de la estructura fundamental de la bicapa lipídica en las membranas celulares (Razzaque y Lanske, 2007). Por lo tanto, los fosfatos inorgánicos (Pi) desempeñan un papel importante en el crecimiento, desarrollo, formación ósea y metabolismo celular, además, de participar en procesos de regulación ácido-base (Xu *et al.*, 2002). Una hipofosfatemia aguda puede causar miopatías, disfunción cardíaca y anomalías hematológicas; el cuadro crónico afecta, principalmente, la mineralización ósea, llegando inclusive, a presentarse raquitismo y osteomalacia (Razzaque y Lanske,

2007). Por otra parte, el exceso de fósforo en la dieta en relación al Ca da como resultado huesos débiles, hipocalcemia en vacas lechera y cálculos urinarios.

### **Metabolismo del fósforo en el rumen**

El metabolismo del fósforo está relacionado con: el tejido óseo, fósfolípidos y los compuestos fosfatados ricos en energía (ATP, AMP cíclico), el 2,3 bifosfoglicerato y otros compuestos vitales para el organismo (William y Ganong, 1994).

Los rumiantes han desarrollado una compleja microbiota simbiote, que incluye bacterias, protozoarios y hongos (Van Soest, 1994), lo que les ha permitido adaptarse al consumo de vegetales y la utilización del material fibroso. El líquido ruminal contiene aproximadamente de  $10^{10}$  a  $10^{11}$  bacterias/mL, lo que representa entre 3 y 8 kg de bacterias en el rumen de un bovino adulto. Estos microorganismos son los más abundantes e imprescindibles para la vida del animal; existe una gran variedad de géneros y especies y por lo menos 28 especies son importantes. El neonato adquiere esta flora por el contacto directo con otros individuos o por contacto indirecto a través de elementos contaminados, como forrajes o agua de bebida. La mayoría de las bacterias son anaerobias estrictas o facultativas (Hespell, 1987; Miron *et al.*, 2001). La importancia nutricional de las bacterias radica en que son responsables de la fermentación y producción de ácidos grasos volátiles (AGV), los cuales constituyen la principal fuente de energía para los rumiantes y, por otro lado, son capaces de generar, a partir de compuestos nitrogenados no proteínicos (NNP), especialmente N-amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), biomasa, que será utilizada como fuente de proteína por el animal. Como productos de su metabolismo, las bacterias generan CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub>, que se pierden al ambiente (Van Soest, 1994).

Existe una población microbiana adherida al epitelio ruminal (McCowan *et al.*, 1978; Dehority y Grubb, 1981), otra que se encuentra libre en el fluido y, por último, una porción adherida y en íntimo contacto con la partículas alimenticias. Los géneros que se asocian a estas tres fracciones son diferentes (Olubobokun *et al.*, 1990). En la fase líquida

(fluido o líquido ruminal), los microorganismos se encuentran libres y se nutren de proteínas y carbohidratos solubles. Constituyen entre el 20 y 30% de la biomasa bacteriana (Miron *et al.*, 2001). Más del 70% de la microbiota ruminal está asociada a la fase sólida del contenido ruminal (Forsberg y Lam, 1977) y se calcula que es responsable de entre el 88 y 91% de la actividad fibrolítica, del 70% de la actividad amilolítica y del 75% de la actividad proteolítica del rumen (Miron *et al.*, 2001), constituyendo ésta la fracción metabólicamente más importante del sistema ruminal.

Las bacterias pueden clasificarse con base en los sustratos que emplean y a los productos finales de su fermentación. Sin embargo, una misma especie bacteriana puede utilizar varios sustratos y generar varios productos. Los microorganismos actúan en sistemas cooperativos dentro de un complejo ecosistema, en el cual la acción de una especie depende de las condiciones que establecen en conjunto toda la biomasa. De este modo, la población bacteriana varía en relación directa con el contenido energético de la dieta y el pH ruminal. Dentro del rango fisiológico, por ejemplo, la flora celulolítica se desarrolla mejor en el extremo menos ácido (6.0 a 6.9), mientras que a la flora amilolítica le favorece el extremo más ácido (5.5 a 6.0).

El P ingresa al animal en forma de fosfatos (mono, bi o trifosfato) y también como compuestos orgánicos (fitatos, fosfolípidos, fosfoproteínas). En el medio ruminal se solubilizan algunos fosfatos inorgánicos (monosódico, monocálcico) en tanto otros (bicálcico) no son hidrosolubles. El P que no alcanza a solubilizarse en el rumen, se solubiliza por efecto de las secreciones digestivas, que además rompen los enlaces de ácido fosfórico de los compuestos orgánicos. Este proceso ocurre, principalmente, en el intestino delgado, bajo el efecto de las fosfatasas producidas por los microorganismos ruminales. El ácido fítico y sus sales, que están principalmente en los alimentos concentrados, no son bien utilizados en el sistema digestivo de especies como las aves, las cuales presentan una pobre asimilación de este fósforo. En los cerdos, cantidades menores de fitatos son predigeridas por la acción de las fitasas vegetales. En los ruminantes, la degradación de fitatos tiene lugar principalmente en el retículo-rumen debido a la acción de las fitasas microbianas (Giorgievskii, 1982; Underwood y Suttle,



2003). Los tratamientos tecnológicos, físicos (calor) o químicos (formaldehído), a los que se someten algunos ingredientes alimenticios pueden reducir la tasa de degradabilidad de los fitatos a nivel ruminal (Konishi *et al.*, 1999; Park *et al.*, 2000).

El P es importante para el desarrollo de los microorganismos, ya que forma parte de sistemas enzimáticos, esenciales en la fermentación de la celulosa (Komisarczuk *et al.*, 1986, 1987; Broudiscou *et al.*, 1999), forma parte del material celular, ácidos nucleicos, ATP, fosfolípidos de la membrana celular y ácido teicoico, que se encuentra en la pared celular de las bacterias Gram positivas (+) (Durand *et al.*, 1983; Komisarczuk y Durand, 1991; Ramírez y Meschy, 2005).

Los requerimientos de P para los microorganismos (Komisarczuk, 1985) son superiores a los requerimientos de P del animal (Preston y Pfander, 1964). La concentración de P en los microorganismos es de 12 – 15 mg/dL y en el fluido ruminal, de 30 – 40 mg/100 mL (Beaumat, 1981). Este elemento es requerido por los microorganismos para la digestión de la celulosa (Burroughs *et al.*, 1951) y para la síntesis de proteína microbiana (Breves y Schoroder, 1991). Durand y Kawashima (1980) recomiendan que el P disponible (de la dieta y del reciclaje de la saliva) para los microorganismos del rumen debe ser por lo menos de 5g/kg de la materia orgánica digestible (MOD), para optimizar la degradación de las paredes celulares de los ingredientes fibrosos. Para mantener la concentración de Pi en la fase líquida del contenido ruminal, el P dietario debe ser rápidamente convertido a Pi. Durand y Kawashima (1980) señalan que la cantidad de P endógeno que se recicla normalmente al rumen es de 200 mg/h (Scott, 1982), lo que significa que podría haber un exceso de P para los microorganismos del rumen debido al reciclaje. Sin embargo, el flujo de la saliva puede verse fuertemente influido por el consumo y el tipo de alimento (forraje vs concentrado), el tiempo de rumia y, en consecuencia, la cantidad de P reciclado al rumen puede variar ampliamente.

El P que entra al rumen proviene de la dieta y sobre todo del P endógeno salival (Thomas 1973), que funciona como un buffer para los cambios de pH producidos por la fermentación microbiana de los carbohidratos a ácidos grasos volátiles (McDougall, 1948).

Los requerimientos de P de las bacterias ruminales son elevados, sobre todo para llevar a cabo la degradación de las paredes celulares de las plantas (Durand y Komisarczuk, 1988; Bravo *et al.*, 2003a). En el rumen, el P también puede afectar la absorción de otros minerales tales como el Ca y el Mg (Beardsworth *et al.*, 1989; Días *et al.*, 2004). Aunque el P endógeno representa una fuente importante que contribuye al mantenimiento de los microorganismos del rumen, su cuantificación no se logra fácilmente. Los métodos de dilución isotópica pueden proporcionar datos específicos sobre la cinética del P y, por lo tanto, se puede considerar una herramienta para cuantificar el flujo de P endógeno al rumen.

En el caso de dietas no balanceadas, es decir, que contengan un exceso de energía y sean deficientes en proteína o en P (o azufre), las bacterias consumen rápidamente esta energía, pero la síntesis microbiana es baja. A este fenómeno se le conoce como “desacoplamiento de las fermentaciones” (Durand *et al.*, 1989) y finalmente se producen cantidades altas de AGVs sin crecimiento bacteriano. El desperdicio de energía resultante está ligado a la existencia de reacciones improductivas generadoras de calor y pone en marcha ciclos metabólicos inútiles. Parte de la energía producida podría utilizarse incluso para la hidrólisis del ATP. En algunos casos, la baja producción de energía puede compensarse con mayor eficacia en su utilización. Por ejemplo, cuando las dietas son ricas en glúcidos rápidamente fermentables, las bacterias productoras de ácido láctico desplazan a las generadoras de acetato, ya que durante la síntesis del primero se genera menor cantidad de ATP. Debido a su elevada capacidad de crecimiento, las bacterias lácticas pueden fabricar mayores cantidades de ATP por unidad de tiempo y competir por los sustratos con las bacterias productoras de acetato. La generación de lactato conducirá al rápido descenso del pH ruminal, con la consecuente disminución de la población y de la actividad de las bacterias productoras de acetato (Jouany *et al.*, 1995) y la presentación de acidosis en el animal.

Si bien, se ha aceptado que la saliva es la principal fuente endógena de P que entra al rumen, los estudios que utilizan  $^{32}\text{P}$  han demostrado que el P endógeno también puede pasar de la sangre al rumen (Lofgreen *et al.*, 1952; Smith *et al.*, 1955). Los resultados

obtenidos a este respecto han sido variables. En la mayoría de los estudios de balance de P en ovinos y bovinos se observó la secreción líquida de P en el abomaso, con valores entre 1 y 15 g/día en ovinos y de más de 20 g/día en bovinos adultos y becerros. Un problema en esos estudios es que no se midió la cantidad de P secretado en la saliva. Por lo tanto, no se detectó la posible absorción de P en los pre-estómagos. Varios estudios reportan movimientos de P a través del rumen. Sin embargo, las cantidades fueron mínimas (Yano *et al.*, 1991). Algunos trabajos mencionan flujos de P a través de la pared ruminal cuando se alteró el gradiente eléctrico, lo que indicó la existencia de un tipo de difusión electrogénica de fosfato en presencia de transporte activo (Yano *et al.*, 1991). Así, en el rumen la absorción de P es inapreciable (Cohen, 1980). La absorción de P a través de la pared omasal no ha sido muy estudiada. En algunos trabajos, utilizando becerros, se observó que se absorbió entre 10 y 40% del P en el abomaso. Estos resultados son contrarios a los obtenidos en ovinos, en los que la absorción fue menor que 0.5 mM/h (Yano *et al.*, 1991).

## **Protozoarios**

La población de protozoarios en el rumen es de  $10^6$ /mL de contenido ruminal. Aunque su número es menor en comparación con las bacterias, estos microorganismos tienen mayor volumen individual, dando lugar a una masa celular de protozoarios semejante a la de las bacterias. La mayoría de los protozoarios son ciliados, pero también existen flagelados. Un papel importante de los protozoarios es su capacidad para limitar la digestión de los sustratos que se fermentan rápidamente, como el almidón y algunas proteínas. Esto lo logran al engullir al almidón y a las proteínas, almacenándolos y protegiéndolos de la acción bacteriana. Así, los gránulos de almidón llegan al intestino y proporcionan una fuente directa de glucosa para el animal. Además, los protozoarios lisan bacterias para utilizarlas como sustrato, limitando, así, su crecimiento. (Duke's. 1999)

Con respecto al metabolismo proteínico, los protozoarios favorecen al rumiante, debido a que aumentan el valor biológico de la proteína, aunque a un elevado costo energético por el reciclaje de nitrógeno. Esto es, utilizan las proteínas sintetizadas por las bacterias para

sintetizar sus propias proteínas. Por otro lado, la mayoría de los protozoos mueren en el rumen, liberando sus proteínas al medio ruminal; entonces, las bacterias las degradan en cadenas carbonadas y amoníaco. Calcular la cantidad exacta de protozoos en el rumen es difícil, por lo que no se sabe exactamente cuánta de esa proteína alcanza el duodeno. Un ejemplo de la dificultad de muestreo es que algunos protozoos migran al fondo del rumen después de alimentarse y se quedan ahí hasta que por quimiotaxis (de los mismos alimentos) regresan a la zona media del rumen (Duke's 1999)

Los protozoos se desarrollan preferentemente en un pH superior a 6.0 y, a pesar de estar normalmente presentes, no son imprescindibles para la función ruminal, ni para la supervivencia del animal. Sin embargo, trabajos con animales defaunados muestran que la condición del animal se deteriora cuando los protozoarios no están presentes. Los protozoarios, a diferencia de las bacterias, poseen una menor capacidad celulolítica (5 al 20% del total); además, son incapaces de sintetizar proteínas a partir del nitrógeno no proteico (NNP). (Duke's 1999)

## **Hongos**

Los hongos del rumen tienen la capacidad de fermentar polisacáridos (celulosa) y se estima que más del 8% de la biomasa está constituida por éstos. Poseen una importante actividad celulolítica, en especial cuando el rumiante consume forrajes demasiado lignificados. Los hongos no predominan en el rumen debido a su baja tasa de multiplicación en comparación con las bacterias; algunas de ellas incluso reprimen el crecimiento de los hongos, como el *Ruminococcus* spp. (Duke's 1999)

Las poblaciones ruminales de microorganismos están reguladas en gran medida por el tipo de alimentación. La gran cantidad de fosatos representa también una forma de reciclaje, ya que los microorganismos requieren cantidades importantes de fosfato para sintetizar nucleoproteínas, fosfolípidos de membrana, coenzimas y nucleótidos. Sin embargo, los altos niveles alimentarios de P aumentan su excreción al ambiente, provocando problemas de eutrofización en los mantos freáticos y otros cuerpos de agua.

## Intestino

Los mecanismos para el metabolismo gastrointestinal de P difieren considerablemente entre rumiantes y no rumiantes. En los rumiantes, se secretan grandes cantidades de Pi al tracto gastrointestinal (TGI) a través de la saliva. Esta secreción está balanceada por la reabsorción intestinal del mineral (Breves y Schröder, 1991). El P se absorbe en la porción media (yeyuno) del intestino delgado y en los rumiantes, también en la parte superior del tracto, principalmente en el duodeno (Irving, 1964; Cohen, 1980; Scott, 1982). En el intestino grueso la absorción de P es probablemente más intensa que su excreción (Georgievskii, 1982). La absorción del P depende de una serie de factores, como: la forma química, la relación Ca: P, el pH intestinal, los niveles dietarios de Ca y P, la presencia de vitamina D, grasas y otros minerales, como el Fe, Al, Zn, Cu, Mo y Mg (Manston, 1967; Hay y Swenson, 1970; Church *et al.*, 1971; Chicco *et al.*, 1973; Thompson, 1978; Georgievskii, 1982, citados por Pizzani, 2005). La absorción del elemento en el TGI se lleva a cabo por transporte activo y difusión pasiva. En presencia de Ca y Na, el P atraviesa la membrana celular del enterocito contra un gradiente de concentración. En los estudios con  $^{32}\text{P}$  en la dieta se ha observado que gran cantidad de él se incorpora a los fosfolípidos de las células de la mucosa intestinal (Pond *et al.*, 2002). El transporte celular de Pi en el enterocito consiste básicamente de tres pasos (Breves y Schröder, 1991):

- a. El Pi entra desde el lumen intestinal al enterocito, atravesando el borde de cepillo, mediante un co-transporte activo de  $\text{Na}^+$  y estimulado por la 1,25 dihidroxi-colecalciferol ( $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ ); la energía necesaria para este transporte activo es aportada por el gradiente de  $\text{Na}^+$  mantenido por la ATPasa dependiente de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ .
- b. Una vez en el enterocito, el P es transportado hasta la membrana basolateral, donde utiliza un mecanismo positivo a favor de su gradiente eléctrico y de concentración para salir de la célula de absorción.
- c. Finalmente, atraviesa la membrana basolateral.

La vitamina D altera la permeabilidad de la membrana, aumentando la absorción de fosfato (Church, 1994). La acción de la hormona  $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$  en el transporte intestinal de fosfato se debe a su efecto en el incremento del sistema de transporte sodio-dependiente (Xu *et al.*, 2002). Comparado con los cerdos, la absorción de Pi es mayor en rumiantes (Schröder *et al.*, 1995).

Schröder *et al.* (1995) estudiaron aspectos relacionados con los mecanismos de transporte de fosfato en el intestino de cabras. Las concentraciones de  $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$  se incrementaron en las cabras que recibieron menos Ca o menos Ca:P en la dieta, lo que no ocurrió cuando la disminución fue sólo de P. En no rumiantes, la disminución del aporte dietario de Ca, P o ambos ocasiona una elevación del calcitriol plasmático. La conclusión de este estudio sugiere que en rumiantes que reciben bajos aportes dietarios de P, el sistema vitamina D regula a los receptores citosólicos de calcitriol en el enterocito. Lo anterior se basa en estudios de Schröder *et al.*, (1991), donde se observaron aumentos en la afinidad de esos receptores en cabras que sufrieron una disminución en la cantidad de P. Además, se encontró que los flujos de Pi de la mucosa hacia la serosa fueron más importantes en animales con disminución de P o de P y Ca en conjunto que en individuos que recibieron cantidades adecuadas de los minerales o que en aquellos que sufrieron agotamiento únicamente de Ca. En relación a los incrementos de los flujos de Pi de la mucosa hacia la serosa, el referido estudio sugiere que esta extensión en la asimilación de Pi por parte del enterocito ocurre por el aumento en la  $V_{\max}$  del sistema de co-transporte Na/Pi. Los tratamientos no afectaron los flujos de Pi de la serosa hacia la mucosa ( $P > 0.05$ ). En 1995, Schröder *et al.*, (1995) no pudieron identificar si el tipo de transporte a través de la mucosa era dependiente o independiente del Na, pero el estímulo de absorción de Pi no estuvo mediado ni por la  $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$  ni por la PTH, lo que indica la independencia del proceso de estas hormonas.

En 1996, mediante estudios *in vitro* con yeyuno de cabras, Schröder y Breves (1996) demostraron que 65 a 70% de la absorción de Pi está modulada por un proceso dependiente del Na. La presencia de dos sistemas de transporte apical podría considerarse:

- El  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  o “antiporter”, concedería protones para el sistema de transporte  $\text{Na}^+/\text{Pi}$

Busche *et al.*, 2007; b) en trabajos más recientes (Busche *et al.*, 2007) se reporta la presencia de un sistema de transporte “simporter”  $\text{Na}^+/\text{Pi H}^+$  que es más sensible y depende del mRNA y del nivel de proteínas en el yeyuno de cabras (Huber *et al.*, 2000). Este tipo de transportador podría ser homólogo al sistema Na/Pi tipo IIb observado en el intestino de ratones (Hilfiker *et al.*, 1998). Schöder *et al.* (1995) mencionan que el agotamiento de P a largo plazo estimula la absorción de Pi en el intestino delgado superior hasta en un 150%. Esto está correlacionado con la elevada expresión de un transportador NaPi IIb. El efecto podría no ser atribuible a un incremento en los niveles plasmáticos de  $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ , ya que en rumiantes con hipofosfatemia no se induce un aumento considerable de esta hormona, como ocurre en no rumiantes (Schröder *et al.*, 1991).

Las evidencias experimentales sobre la absorción de P en el intestino grueso son variables. Breves y Schröder (1991) observaron, al proporcionar entre 1.0 y 4.1 g/día de P en la dieta a ovinos, que la absorción de P que entró al intestino grueso varió desde 2 hasta un 30%. En un estudio más reciente, Mc Grath *et al.* (2012) observaron que novillos que consumían dietas fibrosas de regular calidad y suplementadas diariamente con 3.25 mg/animal de  $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ , presentaron mayor retención de Ca y P (3 y 4 g/día, respectivamente), lo que indica que esta práctica podría representar una alternativa para reducir la excreción de estos minerales.

En el caso de los fitatos que escapan de la degradación ruminal, éstos pueden hidrolizarse y absorberse parcialmente en el intestino delgado (Park *et al.*, 2002). En el intestino grueso, el P fítico es también degradado por acción de las fitasas microbianas.

### **Concentración de fósforo en la sangre y la saliva**

El P en la sangre se encuentra en forma orgánica e inorgánica y su proporción varía entre 3 – 4:1 en los rumiantes (Scott, 1982). Normalmente, la concentración de fosfato en el plasma es de 1.3 a 2.6 mmol/L (6 a 9 mg/100mL para bovinos en crecimiento y de 4 a 6

mg/100 mL para animales adultos). La concentración intracelular de P total es de 45 - 60 mg/dL (Goff, 1998; Georgievskii, 1982).

Las concentraciones de P en la saliva pueden ser de 4 a 5 veces las del plasma sanguíneo. En los bovinos, la cantidad de P secretado diariamente a través de la saliva se encuentra entre 30 y 60 g y en las ovejas entre 5 a 10 g (Breves *et al.*, 1988; Reinhardt *et al.*, 1988; Scott, 1998). La mayor parte del P en la saliva es inorgánica (Reinhardt *et al.*, 1988). Sin embargo, el mecanismo regulador de la secreción del P salival inorgánico aún no se dilucida y no se sabe si el control lo ejerce la hormona paratiroidea (PTH) o la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (Compton *et al.*, 1980; Mañas *et al.*, 1982; Wright *et al.*, 1984).

La concentración de P en la sangre está determinada por un equilibrio entre la absorción intestinal del P de la dieta, el almacenamiento en los huesos y la eliminación a través de la orina. En los no rumiantes y pre rumiantes, la regulación más importante de la fosfatemia se realiza vía renal (eliminación por la orina). Los rumiantes logran mantener relativamente constantes las concentraciones de P en el plasma sanguíneo (Van Soest, 1994), predominantemente por el reciclaje del P salival y por la excreción fecal endógena. Ambos están relacionados directamente con la cantidad de P ingerido y absorbido en el tracto digestivo y su liberación desde el hueso. El exceso de P se absorbe en el tracto digestivo, pasa a la saliva, para regresar al sistema digestivo y excretarse con las heces. Sin embargo, el incremento de la excreción del P vía urinaria solamente ocurre cuando las dietas presentan un desbalance Ca:P importante o cuando los animales tienen un consumo restringido de energía (Siebert y Cameron, 1978, citados por Pazzani, 2005).

### **Excreción urinaria de fósforo**

El transporte transepitelial de  $\text{P}_i$  en el riñón es unidireccional e involucra la entrada por la membrana apical, su pasaje a través de la célula y su salida por la membrana basolateral. La captación del  $\text{P}_i$  a nivel de la membrana apical es el paso limitante de todo el proceso de reabsorción y es el sitio más importante de regulación (Berndt *et al.*, 1992). La entrada de fosfato al túbulo proximal está mediada por transportadores de fosfato dependientes



de Na localizados en la membrana apical, que a su vez dependen del gradiente de Na por la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa, que se encuentra en la membrana basolateral, para movilizar el proceso de transporte. El co-transporte Na/Pi es muy sensible a los cambios de pH, incrementándose de 10 a 20 veces cuando el pH aumenta de 6 a 8.5. Esto refleja el transporte preferencial de la forma bivalente de fosfato y, además, la acción de los protones sobre el co-transporte. Por lo menos se han identificado dos sistemas cinéticamente diferentes de co-transporte Na/Pi en la membrana apical del túbulo proximal: uno de alta capacidad y baja afinidad, que se encuentra sólo en la porción contorneada y es responsable del transporte mayoritario de fosfato proximal, y otro sistema de baja capacidad y alta afinidad, que se encuentra tanto en la porción contorneada como en la recta y es responsable de la reabsorción residual de fosfato. Esta disposición en serie de dos sistemas de co-transporte permite una reabsorción muy eficiente de fosfato por el túbulo proximal (Walker *et al.*, 1987).

En los mamíferos se han identificado tres tipos no relacionados de co-transportadores Na/Pi: el tipo I (Npt1), el tipo II (Npt2) y el tipo III (Murer *et al.*, 2000; Tenenhouse y Murer, 2003). El co-transportador tipo I está localizado en el borde de cepillo de las células tubulares proximales. Su función no está claramente establecida y se sugiere que mediaría el transporte de  $\text{Cl}^-$  y de aniones orgánicos. El co-transportador Na/Pi tipo II se expresa en la membrana apical de los epitelios de absorción/resorción y existen tres subtipos: el IIa, el IIb y el IIc. El transcripto tipo IIa se expresa en el túbulo renal proximal del riñón adulto y el tipo IIc, en el riñón del animal joven; ninguno de los dos se detecta en el intestino. El tipo IIb se expresa en el intestino delgado y en las células alveolares de tipo II, pero no se expresa en el riñón. El co-transportador Na/Pi tipo II media el co-transporte electrogénico de Na y fosfato con una estequiometría de tres iones de sodio por uno de fosfato. El tipo IIa parece ser el más importante para el co-transporte Na-fosfato a nivel de túbulo proximal y para la reabsorción tubular global de P (Murer *et al.*, 2001). Un trastorno en el gen Npt2, que codifica este co-transportador, resulta en fosfaturia, en la pérdida de aproximadamente 80% de la tasa de co-transporte Na/Pi y en una falta de respuesta de la reabsorción tubular de fosfato a dos de los más importantes mecanismos regulatorios: la

inhibición inducida por la PTH y la estimulación de la reabsorción provocada por la privación dietética de fosfato.

Existe una diferencia fundamental en la regulación de los tipos IIa y IIb de co-transportadores Na-fosfato. En el riñón donde está localizado el co-transportador tipo IIa existen mecanismos regulatorios rápidos (mediados por PTH, otras hormonas peptídicas y por la ingesta dietaria de P) y lentos (regulados por la demanda de fosfato para el crecimiento y desarrollo). En contraste, en el intestino, donde está localizado el co-transportador tipo IIb, existen sólo mecanismos regulatorios lentos (relacionados con el aporte dietario de P o con la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ). En estudios *in vivo* sobre el co-transportador tipo IIa en el riñón de la rata, se ha visto que éste es rápidamente regulado a nivel del borde de cepillo apical dentro de las dos horas posteriores a cambios agudos en el P de la dieta o en la administración de PTH. El rápido incremento en el co-transportador tipo IIa en la membrana apical que sigue a la restricción dietética de P ocurre independientemente de la síntesis *de novo* de la proteína y es sensible a los trastornos ocasionados por la colchicina en los microtúbulos. Esto sugiere que la regulación está mediada por la translocación dependiente del citoesqueleto apical a la membrana del borde de cepillo de co-transportadores tipo IIa presintetizados. La rápida disminución del Npt IIa a nivel de la membrana apical luego de una carga oral de fosfato o luego de la administración de PTH se acompaña de un incremento transitorio del mismo en las regiones donde hay lisosomas, previo a su desaparición del epitelio tubular. La internalización del Npt IIa ocurre principalmente en las hendiduras intermicrovellositarias ya que se encuentran los receptores de membrana en este sitio (Walker *et al.*, 1987) y claritina; los co-transportadores entonces viajan en pequeñas y grandes vesículas endocíticas hasta alcanzar los lisosomas, donde son degradados.

### **Regulación de la absorción de fósforo**

En rumiantes y no rumiantes, la disminución de las concentraciones de Ca en la dieta, incrementa los niveles de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , y con ello, la eficiencia de la absorción de Ca (Pfeffer *et al.*, 2005). El  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  tiene un papel fundamental, debido a su acción en la

homeostasis de Ca y P. El mayor efecto de la utilización del  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  es un aumento en la absorción intestinal y la liberación ósea de Ca (Montgomery *et al.*, 2004). Estos autores (Montgomery *et al.*, 2004) sugieren que existe una diferencia entre *Bos taurus* y *Bos indicus* ya que observaron mayores concentraciones de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  en los tejidos y en el plasma en *Bos indicus*, indicando que la suplementación de niveles óptimos de esta vitamina en animales confinados debería considerar las diferencias entre ambas especies.

La depleción de P incrementa las concentraciones plasmáticas de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  mejorando la eficiencia de absorción de Ca y P en ratas y cerdos; sin embargo, en los rumiantes, la eficiencia en la absorción de P aumenta, pero no la de Ca (Abdel-Hafez *et al.*, 1982). Durante la depleción de P no fueron observados incrementos en las concentraciones de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  en ovinos (Breves *et al.*, 1985). Aumentos significativos en la cantidad de receptores intestinales sensibles a  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , han sido observados en cabras que reciben bajas cantidades de P en la dieta (Breves y Schröder, 1991).

Pfeffer *et al.* (2005) indicaron que, ni una importante secreción líquida de P en el TGI antes del duodeno, ni la absorción líquida de P en los intestinos fueron acompañadas de aumentos comparables en la movilización de Ca. Según los autores, esto explica por qué en los estudios con uso de radioisótopos de ambos elementos, la absorción de P en la mayoría de los casos fue mayor que la de Ca. Analizando los resultados de estudios con radioisótopos, se encontró en 18 de 20 estudios que la relación entre el Ca y el P absorbidos, fue menor de 0.85:1, con un valor mínimo de 0.13:1 en estudios con corderos. Solo dos estudios presentaron relaciones mayores (1.5:1 en vacas lecheras y 6.1:1 en corderos). Lo antes mencionado marca importantes diferencias biológicas entre rumiantes y no rumiantes.

La reducción drástica en la ingestión de P disminuyó la retención de Ca y P, y causó hipofosfatemia, en combinación con hipercalcemia; sin embargo, no se afectaron las concentraciones plasmáticas de PTH o de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . También se observó un aumento unidireccional en los flujos de Pi desde la mucosa hacia la serosa en preparaciones de duodeno y yeyuno. Cuando solo disminuyó la absorción de Ca, se observaron incrementos

en las concentraciones plasmáticas de Pi, PTH y  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . En tanto, *in vitro* no se observaron cambios en los flujos de Pi a través de la mucosa. Corderos alimentados con dietas pobres en Ca y P, presentaron resultados semejantes cuando fue ofrecida una dieta con niveles bajos en P, excepto por el incremento del  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  plasmático, efecto reportado anteriormente para dietas con niveles bajos en Ca y adecuados en P. Estos resultados confirman que los procesos que modulan la absorción de P son independientes de aquellos que regulan la absorción de Ca. La hiposfosfatemia incrementa la absorción intestinal de Pi y suprime la secreción de PTH, minimizando la pérdida de Pi en la orina. Eventos opuestos ocurren en el proceso de hiperfosfatemia.

Mejia-Haro *et al.*, (2001) estudiaron en ovinos, los efectos de diferentes relaciones Ca:P en la dieta, sobre la absorción y retención de P. Las proporciones de Ca:P evaluadas fueron 2.5:1, 5.6:1 y 9:1. Ellos observaron que, si bien el consumo de P fue inferior al de las exigencias, la concentración y excreción de P en las heces y su absorción aparente, no fueron afectadas por los tratamientos. Los autores sugirieron que, probablemente, por estar los animales en crecimiento, la absorción de P no disminuyó. Shanklin (2001) observó en corderos alimentados con bajos niveles de fósforo un incremento en la excreción urinaria de Ca comparada con los animales que recibieron mayores niveles de P. Así mismo, la excreción de Ca fue mayor en corderos suplementados con fuentes de P inorgánicas, comparada con los que recibieron fuentes orgánicas, esto asociado a una disminución en la absorción de Ca. La explicación a esta disminución en la absorción de Ca podría ser una respuesta a la disminución en la ingestión de Ca, habiendo una disminución en el fósforo sanguíneo y por lo tanto, una reducción en la retención de P en los huesos. Cuando el P no es retenido en los huesos, las necesidades de Ca en los tejidos esqueléticos son menores, disminuyendo la absorción y retención de Ca.

Field *et al.* (1975) trabajaron con corderos evaluando diferentes relaciones de calcio y fósforo en la dieta, siendo uno de los tratamientos una relación Ca:P alta, donde existió una deficiencia de fósforo con un nivel de calcio que correspondía a la necesidad del animal, observaron que este tratamiento generó una disminución en el consumo de MS y en el PV del animal. Además, se presentó una digestibilidad aparente baja de la MS.

Salviano (1996) estudió en machos Suffolk, el efecto de tres relaciones de Ca:P (0.75:1; 1.5:1 y 3:1) en las pérdidas endógenas y en la absorción real de P, usando la técnica de dilución isotópica, y concluyó que las diferentes proporciones utilizadas en las dietas no afectaron la excreción de P ni de Ca, tampoco las pérdidas fecales endógenas de P. Sin embargo, concluyó que la proporción 1.5:1 presentó los mejores índices de absorción. También observó que la excreción fecal de Ca aumentó con la elevación en el consumo del mismo.

### **La alimentación y la importancia del fósforo**

La alimentación es un factor determinante en la producción animal y sus efectos pueden observarse en la cantidad y en la calidad de los productos finales. Además, es el rubro de más peso en la producción pecuaria, lo que la hace un punto de especial interés y preocupación con vistas a mejorar el margen económico de los productores (Lachman, 1999).

Después del Ca, normalmente el P es el mineral que se incluye en mayor proporción en los suplementos minerales utilizados en la alimentación animal y, debido al elevado costo de las fuentes de P, incide notoriamente en el costo de los suplementos (Patiño *et al.* 2012) y, en consecuencia, en los costos de producción.

En la práctica, la situación se complica, ya que los sistemas habituales de producción ovina basan su alimentación en el pastoreo (praderas cultivadas o pastos nativos) y en la utilización de recursos alimenticios de bajo valor nutrimental (residuos de cosechas y subproductos), con un marcado carácter estacional. Como resultado, en la mayor parte de las unidades de producción ovina, el control de la alimentación se limita a completar o corregir los aportes de los recursos forrajeros, cuya composición y nivel de ingestión son poco o nada conocidos.

Optimizar, la alimentación del ganado ovino en la práctica no es un problema sencillo de resolver y todavía hoy quedan muchas cuestiones técnicas por resolver, como (1) el valor de las necesidades nutrimentales (energía, proteína, minerales); (2) la capacidad de

ingestión de alimento, y (3) los efectos específicos de los alimentos y del manejo de la alimentación durante el ciclo productivo.

El P es un componente del ortofosfato de calcio fluorapatita  $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{CaF}_2$  y de la hidroxiapatita  $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{Ca}(\text{OH})_2$ . La forma natural estable del P es el radioisótopo  $^{31}\text{P}$  (Giorgievskii, 1982). El P se encuentra en las plantas principalmente como componente orgánico (sales de ácido fítico), fosfolípidos, ácidos nucleicos y otros componentes. Su concentración en granos (semillas) es tres a cuatro veces mayor que en las pajas. La distribución aproximada en los granos es la siguiente: fitatos solubles e insolubles, de 50 a 70%; fosfolípidos, fosfoproteínas y ácidos nucleicos, de 20 a 30%, y fitatos minerales, de 8 a 12%.

Una parte mayoritaria (60 a 80%) del total del P en los granos de cereal y semillas de oleaginosas existe unido orgánicamente en forma de ácido fítico (AF). El AF es un éster del ácido hexafosfórico del inositol; está presente principalmente en los cereales y semillas de leguminosas como sal de Ca o Mg, llamada fitina. El ácido fítico puede formar sales insolubles con el Ca (Ducke's, 1999) y Zn, que no pueden utilizarse en el aparato digestivo, lo que llega a ocasionar deficiencias de estos elementos en especies como aves y cerdos.

El P unido orgánicamente, fitina-P, no es útil para los animales no rumiantes; pero, los rumiantes son capaces de utilizarlo relativamente bien. Como ya se mencionó, esta diferencia se debe a la presencia de fitasas en los microorganismos del rumen (Ducke's, 1999). Cuando la proporción de fitato es menor a 50% del suministro total de P, aproximadamente 90% del P fítico es hidrolizado por las bacterias del rumen. Pero cuando la mayor cantidad de P está como fitato, su hidrólisis puede ser limitada (Ellis y Tillman, 1991). La hidrólisis del fitato puede no ser tan eficiente en las dietas ricas en granos y, además, las diferentes sales de ácido fítico encontradas en los alimentos, como el fitato de Na contenido en el maíz y en el arroz, o el fitato de Ca de la harinolina, pueden no hidrolizarse con la misma eficiencia por los microorganismos ruminales (Godoy y Meschy, 2001). Yanke *et al.* (1998) han determinado la actividad fitásica de cultivos puros de bacterias ruminales bajo diferentes condiciones de alimentación, la cual se comparó

favorablemente con las reportadas para *Aspergillus ficuum* (600 U/mL), *Bacillus subtilis* (44U/mL) y *E. coli* (5,600 U/mL). De esta manera, estos autores demostraron que la actividad fitásica en el rumen proviene principalmente de la bacterias, lo que confirma los resultados de Raun *et al.* (1956).

En el caso de los forrajes, la concentración de P es variable y depende de las características del suelo. La fertilización de suelos pobres en P con fuentes fosfatadas es una práctica común en varios lugares del mundo, y se han evidenciado incrementos hasta de 100% en las concentraciones de P en la MS de forrajes (Underwood y Suttle, 2003). Hojas y tallos en las plantas poseen pocas cantidades de ácido fítico (mioinositol hexaquisfosfato). El P de los forrajes y de otras semillas puede absorberse fácilmente. La forma como se distribuye el ácido fítico dentro de las estructuras de la planta en los granos determina el grado de hidrólisis de ese P en el tracto gastrointestinal (TGI) (Kinkaid y Rodehutschord, 2005).

Bravo *et al.* (2003) mencionan que no se toman en cuenta las características del P en los alimentos cuando se intenta optimizar la oferta de este mineral a los animales. El P de la dieta está disponible para su absorción cuando alcanza los sitios específicos para este proceso en la forma de Pi, por lo tanto, la solubilidad del mineral antes de la absorción determinará la cantidad de P que será absorbida. Dependiendo de la forma química del P en la dieta, la solubilidad del mineral en el tracto digestivo tendrá lugar por la solubilidad química (fosfato inorgánico), por la liberación del P resultante del proceso de digestión de la materia orgánica (P en los nucleótidos, lípidos) o por reacciones de hidrólisis específicas (P fítico). La proporción de P orgánico de los alimentos incluye el P fítico y el P de las plantas contenido en las moléculas de fosfolípidos y/o ácidos nucleicos (Patiño *et al.*, 2012).

En relación a las fuentes inorgánicas de P, las más utilizadas son los ortofosfatos de Na, Ca, K, NH<sub>4</sub> y sus combinaciones. Las fuentes de P contienen cantidades variables de meta- [(PO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] y piro- [(P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>)<sup>4-</sup>] fosfatos, dependiendo de las temperaturas alcanzadas en su elaboración. Además de los anteriores, se utilizan en menores cantidades los fosfatos de

roca, los metafosfatos de Na, K y Ca, los pirofosfatos de Na y Ca y los polifosfatos  $[n.(PO_4)^3]$  de Na y  $NH_4$  (Underwood y Suttle, 2003). El P es absorbido en forma de ortofosfato; los piro y metafosfatos son menos disponibles biológicamente. Los fosfatos hidratados son menos disponibles que las fuentes anhidras del mismo tipo y el valor biológico del fosfato disminuye al sacar agua de la hidratación. Las fuentes más hidrosolubles comúnmente poseen valores biológicos superiores. El fosfato bicálcico, el polifosfato de amonio, la harina de huesos tratada con vapor y el fosfato sin flúor se consideran buenas fuentes de P, siguiendo en biodisponibilidad el fosfato proveniente de rocas (Church, 1994).

### **Tamaño de partícula del forraje**

El tamaño de la partícula de forraje afecta el tiempo de masticación y de rumia, teniendo un efecto en la secreción salival. La reducción en el tamaño provoca, en general, un descenso en el tiempo de masticación y retención en el rumen. La capacidad de fermentación de los alimentos en el rumen depende de la función de la tasa de fermentación bacteriana y el tiempo de residencia en el rumen o el promedio de tiempo de retención (Dhanao *et al.*, 1984) Lo que afectaría el flujo de P hacia el rumen y su utilización en el tracto digestivo.

### **Eficiencia en la absorción de fósforo dietario**

La cantidad de fósforo excretada en las heces es el resultado de la siguiente sumatoria:

P no disponible en la dieta + P presente en la dieta no absorbido + P endógeno

El P presente en la dieta disponible para su absorción es la cantidad liberada durante el proceso de la digestión y aparece en el mismo “pool” del P endógeno en los lugares de absorción en el TGI (CSIRO, 2007). A pesar de la existencia de diferencias entre alimento y suplementos minerales en relación con la biodisponibilidad de P (Underwood y Suttle, 2003), en la mayoría de los casos, estas variaciones aún no se consideran cuando se definen las recomendaciones alimentarias, ya que la mayoría de las instituciones que



trabajan en ello adoptan un coeficiente de absorción (CAR) fijo para cada etapa fisiológica. En los rumiantes, la proporción de P disponible en la dieta y de P endógeno en el “pool” del TGI se incorporan a la masa microbiana del rumen (CSIRO, 2007).

Los diferentes sistemas de alimentación (AFRC, 1991; ARC, 1980; CSIRO, 2007; NRC, 2006) manejan para el P un CAR entre, 0.6 y 0.75. Bravo *et al.* (2003) estudiaron una amplia base de datos, donde existen diferencias en los coeficientes de absorción verdadera de P cuando se comparan especies y etapas fisiológicas, incluso aún dentro de la misma especie. Se observó que, la media para el coeficiente de absorción verdadera es de 0.72. Es importante resaltar que el coeficiente de absorción aparente de P no fue considerado, porque son conocidas las elevadas variaciones que hay entre animales.

En los rumiantes, el P absorbido en el intestino puede ser de origen dietético o microbiano, debido a que parte del P ingerido por el animal se incorpora a los microorganismos. El P microbiano se presenta como una fuente intermedia de P para el hospedero. Considerando que el P de origen salival se encuentra en la forma inorgánica (Pi), se espera una elevada tasa de absorción de P: el coeficiente de absorción medio esperado para el P salival es de 0.77 (Church, 1994). La tasa de absorción del P se incrementa en función de la ingestión (Vitti *et al.*, 2000). Sin embargo, niveles crecientes de suplementación fosforada mostraron un efecto contrario en corderos de la raza Santa Inés (Vitti *et al.*, 2008).

### **Fósforo y medio ambiente**

El estiércol generado en la ganadería puede tener un impacto negativo en el medio ambiente si no existe un control en su almacenamiento, transporte o aplicación, debido a la emisión de gases contaminantes hacia la atmósfera, la acumulación de micro y macro nutrientes en el suelo y en los cuerpos hídricos.

En Estados Unidos y otros países desarrollados hay legislaciones específicas para el manejo y el depósito de excretas animales que afecten los cuerpos de agua, suelo y atmósfera. En México, como en la mayoría de los países en vías de desarrollo, la

regulación y vigilancia gubernamental sobre el uso y manejo de excretas animales es escasa y confusa, ya que sólo se especifican ciertas normas sobre descargas de contaminantes al agua, restando importancia a las emisiones a la atmósfera y suelo, y sin especificaciones claras relacionadas con excretas de ganado. El impacto sobre el medio ambiente dependerá en gran medida de la especie pecuaria, del sistema de alimentación y del manejo del estiércol (Hao, 2009; Pinos-Rodríguez *et al.*, 2012).

Por sus características orgánicas, el estiércol aplicado al suelo aumenta la capacidad de retención de agua, el intercambio catiónico y la filtración de agua al subsuelo, y reduce la erosión. Además, la fracción líquida del estiércol ayuda a disminuir las pérdidas de nitrógeno, carbono y azufre, en sus formas gaseosas, en el suelo (Capulin *et al.*, 2001); al depositar nutrimentos como N y P, puede reducir el uso de fertilizantes químicos (Miner *et al.*, 2000). Pero el suelo puede verse afectado por el exceso de estiércol por el depósito de un exceso de N y P, además de microorganismos patógenos (*E. coli*), antibióticos y otros compuestos, como fitoestrógenos, plaguicidas, herbicidas, etc. (Powers, 2009). En países donde las regulaciones ambientales son laxas o no existen, el estiércol se aplica al suelo continuamente, excediendo la capacidad de captación de nutrimentos por los cultivos (Dietz y Hoogervorst, 1991). La sobrecarga de nutrimentos ocasiona su infiltración por escurrimiento y lixiviación hacia las aguas superficiales y subterráneas (Miner *et al.*, 2000; Pinos-Rodríguez *et al.*, 2012).

El agua se contamina por las deyecciones a través de escurrimientos, infiltraciones y percolación profunda en las granjas, por esorrentías y flujos superficiales desde zonas de pastoreo y tierras de cultivo (EPA, 2006). El P del estiércol está relacionado con la contaminación de aguas superficiales (Miller, 2001; Reddy *et al.*, 1999; Pinos-Rodríguez *et al.*, 2012). Debido a que el P en el agua no se considera directamente tóxico, no se han establecido niveles estándares en el agua potable (NMX-AA-029-SCFI-2001). Sin embargo, tiene un impacto ambiental importante en los recursos hídricos porque estimula el proceso de eutrofización. Éste se puede dividir en cuatro etapas.

1. Inicia cuando la materia orgánica entra en el medio y empieza a oxidarse. Hay actividad de las bacterias aerobias que transforman la materia orgánica en nutrimentos y compuestos orgánicos benéficos para el crecimiento de microalgas, algas y plantas vasculares, cuya población aumenta.
2. En la segunda etapa, la respiración de los heterótrofos incrementa el consumo de oxígeno, disminuyendo su concentración. El pH y la transparencia del agua se reducen.
3. En la tercera etapa, la respiración y la degradación de la materia orgánica terminan con el oxígeno disuelto, causando la muerte de los organismos aerobios, como peces, anfibios, crustáceos y bacterias. Éstos se convierten en sustrato de las bacterias anaerobias. Del agua se desprenden gases olorosos como amonio, sulfuros y metano. Los sulfuros reaccionan con el agua para formar ácido sulfhídrico ( $H_2S$ ) y el agua se acidifica.
4. La última etapa se alcanza cuando la producción de ácidos afecta las poblaciones del ecosistema.

Así, las principales manifestaciones de un cuerpo de agua eutrofizado son: agua turbia, mal olor, gran cantidad de algas o de lirios, sedimentos de color oscuro por la descomposición de la materia orgánica y la disminución en las concentraciones de oxígeno disuelto. Si, además, el cuerpo de agua es cerrado (como un lago), semicerrado (como una laguna) o tiene poca circulación, los nutrimentos no se dispersan ni se diluyen y la eutrofización tiende a aumentar. En el mar, en cambio, el oleaje y las corrientes diluyen la materia orgánica y favorecen la oxigenación del agua.

La entrada de nutrimentos a un lago puede acelerarse por las actividades humanas (urbanas o agrícolas), proceso conocido como eutrofización antropogénica. Ésta se origina principalmente por efluentes de las plantas de tratamiento de aguas negras, que

contienen nitratos y fosfatos; por escurrimientos de fertilizantes y desechos animales, así como por erosión acelerada de la capa superficial del suelo rica en nutrimentos (Tyler, 1994). Estos efectos se observan en el lago de Xochimilco, el viejo lago de Chapultepec, el lago Tezozómoc (los tres en la Ciudad de México) y el lago de Chapala, en Jalisco. Se calcula que al menos una tercera parte de los cerca de 100,000 lagos medianos y un 8 % de los grandes lagos cercanos a centros de población en América tienen algún grado de eutrofización antropogénica (CONAGUA, 2012).

El proceso de eutrofización es fácil de representar ejemplificando lo ocurrido en la Bahía de Chesapeake entre los años 70 y 80. Este ejemplo se considera el más representativo a nivel mundial. Esta bahía es el estuario más grande de Norteamérica. Antes de 1970, la Bahía de Chesapeake era un gran productor de millones de toneladas de peces y medusas. La gran mayoría de las cadenas alimenticias que la sostenían tenían su origen en los pastizales (unas 200,000 hectáreas) o pasto sumergido que crece en el fondo del estuario, de 1 a 2 m debajo de la superficie. Estas camas de pasto daban comida y un lugar para vivir a los peces jóvenes, además de disolver oxígeno disponible para su respiración. Antes de 1975, los pastos en ríos y subestuarios aledaños a la bahía empezaron a morir. Para 1975, el crecimiento fue dramático y, para 1980, los pastos habían desaparecido, exceptuando algunas zonas de la bahía. Las poblaciones de peces, moluscos y aves acuáticas que dependían de esta vegetación disminuyeron dramáticamente y todavía más devastador fue que, en las aguas del fondo de las zonas profundas, se agotó el oxígeno disuelto y muchos peces murieron sofocados (Nebel y Wright, 1996).

Hay sitios naturalmente eutróficos. Son ecosistemas acuáticos que reciben materia orgánica y nutrimentos de afluentes y escurrimientos. Entre ellos se encuentran los ecosistemas cercanos al mar, como las lagunas costeras y bahías semicerradas. En estos lugares, el N y el P promueven un incremento en la cantidad de organismos fotosintéticos (microalgas, macroalgas y plantas vasculares), que son la base de la cadena alimenticia. Estos cuerpos acuáticos son hogar de una gran cantidad de organismos como peces, aves, moluscos y reptiles. Los nutrimentos que circulan en estos cuerpos pueden exportarse al mar en grandes cantidades, enriqueciendo las aguas marinas. Esto ocurre en la laguna de

Chacahua, ubicada en las costas de Oaxaca, la cual exporta al mar entre 15.4 y 89.2 ton de N y entre 0.31 y 183.3 ton de P al año. Otros ejemplos de zonas con tendencia a la eutrofización en nuestro país son la laguna costera La Joya-Buenavista, en Chiapas, y la laguna Bojórquez, en Cancún, Quintana Roo, así como la presa Valle de Bravo, en el Estado de México, y la presa Ignacio Allende, en Guanajuato.

Los problemas derivados de la eutrofización de cuerpos de agua comenzaron en el siglo XIX, cuando se construyeron los sistemas de drenaje de las grandes ciudades europeas. Llegado el siglo XX, se seguía considerando al océano como un gran basurero sin fondo para nuestros desechos. En los años 50 y 60 se empezaron a hacer estudios para combatir la eutrofización antropogénica.

Se han realizado estudios relacionando la nutrición mineral con el medio ambiente por la pérdida de minerales como el P en las excretas que van a las fuentes de agua. En la actualidad, las áreas dedicadas a la producción han ido disminuyendo debido al crecimiento de los centros urbanos, lo que ha llevado a tener más animales en una menor superficie (intensificación de la producción).

## 2. JUSTIFICACIÓN

Este trabajo buscó precisar la variación en la utilización digestiva del P en respuesta a la modificación del tamaño de partícula del forraje. Con esto, se proporcionarán herramientas para establecer recomendaciones más precisas en la nutrición fosforada de los animales y reducir la excreción de P. Con ello se favorecerá la economía de las producciones y disminuirá el impacto ambiental que causa la producción animal.

## 3. HIPÓTESIS

Alimentar a las ovejas con partículas grandes de forraje, favorecerá la excreción fecal de P.

Alimentar a las ovejas con partículas grandes de forraje, favorecerá la excreción urinaria de P.

## 4. OBJETIVOS

### **Objetivo general:**

Evaluar el efecto del tamaño de partícula del forraje en la utilización digestiva aparente y excreción urinaria de P en ovejas en etapa de mantenimiento.

### **Objetivos específicos:**

- Evaluar el efecto del tamaño de partícula del forraje en la utilización digestiva (digestión, absorción y excreción) aparente de P en ovejas en etapa de mantenimiento.
- Evaluar el efecto del tamaño de partícula del forraje en la excreción urinaria de P en ovejas en etapa de mantenimiento.

## 5. MATERIAL Y MÉTODOS

### **Localización**

El estudio se realizó en la posta zootécnica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México, ubicada en la región central del Estado de México, municipio de Toluca.

Sus coordenadas extremas varían de los 18° 59' 22" a los 19° 27' 9" de latitud norte y de los 99° 31' 43" a los 99° 46' 58" de longitud oeste; la altura promedio es de 2,600 msnm. El clima de la región es templado sub-húmedo, con una temperatura media anual de 13.7°C y con una temporada desde 80 a 140 días de heladas en invierno. La precipitación media anual varía de 1,000 a 1,200 mm (INEGI 2010).

### **Animales**

El Comité Institucional para Cuidado y Uso de los Animales de Experimentación (CICUAE) de la FMVZ de la UNAM, aprobó los procedimientos que se realizaron en el manejo de las ovejas. Se utilizaron seis ovejas Suffolk, adultas (4 – 5 años de edad), con un peso corporal de  $42 \pm 6$  kg, condición corporal  $2.5 \pm 0.5$  (en escala del 1 al 5), en etapa de mantenimiento. Se realizó una cirugía para su canulación a nivel ruminal. Durante el periodo pre-operatorio los animales se desparasitaron (Albendazol, a una dosis de 7.5 mg/kg) y se reportaron clínicamente sanos antes de realizar los procedimientos quirúrgicos.

### **Manejo quirúrgico**

Los animales se dietaron 24 h antes de la cirugía. Se utilizó como tranquilizante clorhidrato de xilacina al 2% (20 mg/mL), a una dosis 0.2 – 0.5 mL intramuscular (IM), así como anestesia local con lidocaína (infiltración local). Se procedió con la cirugía de canulación (Cabrera *et al.*, 2000) y se colocaron cánulas de la marca Bar Diamond, Inc. ® (Parma, Idaho, U.S.A), con un diámetro interno de 7.5 cm.

El periodo de recuperación fue de 30 días, aproximadamente. Los animales se alojaron en jaulas individuales y se les administró antibiótico (penicilinas, IM 22,000-66,000 U/kg) y analgésico (metamizol, IM 3-8 mL) durante ocho días. Los procedimientos de antisepsia se realizaron con yodo y se aplicó un cicatrizante (Aluspray® Vétoquinol de México, S.A. de C.V.) en la zona. Una vez recuperados de la intervención quirúrgica, los animales fueron asignados a los tratamientos experimentales en un diseño de dos cuadrados latinos 3 × 3.

## Alimentación

La alimentación se ofreció cuatro veces al día (0700, 0900, 1100 y 1500 h), en tanto el agua fresca estuvo disponible *ad libitum*. La dieta experimental se elaboró con los ingredientes que figuran en el cuadro 1: heno de avena y un concentrado a base de maíz molido, pasta de soya, melaza y sales minerales. La composición química de los ingredientes estuvo dentro de los valores consignados en los cuadros de valor nutrimental de los alimentos (National Research Council, 2006). Sin embargo, el heno de avena presentó una menor concentración de proteína con respecto a otros estudios (Aguilar *et al.*, 2013); las concentraciones de Ca y P se encontraron dentro de los valores citados (NRC, 2007; [www.feedpedia.org](http://www.feedpedia.org)).

**Cuadro 1.** Composición química (g/kg MS) y contenido energético de los ingredientes de la dieta experimental.

Ítem	Pasta de soya	Maíz, grano	Melaza	Avena, heno
MS	910	890	760	900
MO	930	985	880	920
PC	490	96	60	100
PDR	352	64	52	84
FND	150	145	-	630
FAD	100	26	-	390
Ca	3.8	1.0	9.7	4.0
P	7.1	3.0	1.0	2.0
EM, MJ/kg MS	13.4	13.4	11.3	8.8
EM , Mcal/ kg MS	3.2	3.2	2.7	2.1

La dieta experimental se formuló con base en las recomendaciones de los requerimientos nutrimentales para pequeños rumiantes (National Research Council, 2006) para borregas en mantenimiento. El cuadro 2 muestra su formulación y composición nutrimental. La ración balanceada se ofreció en forma integral para evitar la selectividad de los animales.

La única variable de la dieta fue el tamaño de partícula del forraje ofrecido. Se utilizaron tres tamaños: chica (C, 2.54 cm), mediana (M, 5.08 cm) y grande (G, “en greña”). El nivel de consumo voluntario diario se estimó a partir del peso metabólico de cada animal con la siguiente ecuación:  $90 \text{ g MS/kg PV}^{0.75}$ .



**Cuadro 2.** Fórmula de la dieta integral (g/kg de MS) experimental para ovejas Suffolk adultas en mantenimiento y su composición nutrimental (g/kg en base seca).

Ingrediente	g/kg MS	Composición	g/kg MS
Pasta de soya	144.4	Materia seca (MS)	880
Maíz molido	174.6	Materia orgánica (MO)	930
Premezcla mineral <sup>1</sup>	17.7	Proteína cruda (N × 6.25)	151
Melaza, caña de azúcar	63.0	PDR <sup>3</sup>	115
Heno de avena <sup>2</sup>	600.0	FND <sup>4</sup>	425
<b>Total</b>	<b>1,000.00</b>	<b>FAD<sup>5</sup></b>	<b>253</b>
		Ca	3.35
		P	3.36
		Relación Ca:P	1:1
		EM <sup>6</sup> , MJ/kg MS	10.25

<sup>1</sup>Ca, 200 g/kg; Mg, 0.9 g/kg; Cu, 3.35 mg/kg; Fe, 7.0 mg/kg; Zn, 0.25 mg/kg de MS.

% de inclusión: carbonato de calcio, 50.93%; vehículo, 46.78%; óxido de cinc, 1.08% (Zn, 8064.32 mg); sulfato ferroso, 0.73% (Fe, 2258.07 mg); sulfato de cobre, 0.43% (1080.65 mg); óxido de magnesio, 0.05% (290.32 mg)

<sup>2</sup>Tres tamaños de partícula: chica (2.54 cm), mediana (5.08 cm) y grande (“en greña”)

<sup>3</sup>Proteína degradable en el rumen

<sup>4</sup>Fibra detergente neutro

<sup>5</sup>Fibra detergente ácido

<sup>6</sup>EM = energía metabolizable

## Manejo

Durante la fase experimental, los animales se alojaron en un edificio cerrado de 200 m<sup>2</sup> de superficie, con piso de concreto, techo con láminas de asbesto, cortinas de fibra de vidrio y luz natural y artificial. Dentro de estas instalaciones, se utilizaron jaulas individuales para su recuperación post-operatoria, así como para la adaptación a los tres diferentes tamaños de partícula del alimento. Durante el periodo de muestreo los animales se ubicaron dentro de jaulas metabólicas metálicas con una longitud de 100 × 180 × 100 cm,

piso tipo “slat”, comedero, bebedero y recolector de muestras para orina y separador para heces.

### **Pruebas de digestibilidad**

El estudio planteó tres periodos de digestibilidad, cada uno con una duración de tres semanas. Cada tamaño de partícula (C, M, G) se ofreció durante tres semanas; en la segunda semana, los animales se subieron a la jaula metabólica. Las primeras dos semanas se consideraron como adaptación a la dieta. En la tercera semana se realizaron los muestreos correspondientes. El experimento se repitió en el tiempo; de esta forma cada oveja recibió los tres tamaños de partícula.

Los animales se pesaron individualmente con una báscula al inicio y al final de cada periodo experimental. En la semana de muestreo (tercera de cada periodo de digestibilidad) se registró diariamente el peso del alimento ofrecido y rechazado, para estimar el consumo. Los rechazos de alimento se recolectaron todos los días y se congelaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento en el laboratorio.

La producción urinaria se midió también diariamente, utilizando probetas de vidrio (1,000 y 250 mL), a las 0830 h. Se adicionaron 100 mL de una solución al 10% (V/V) de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) RA, como conservador para mantener el pH por debajo de 3 y evitar pérdidas de nitrógeno por evaporación del amoníaco. Después de medir la orina, se tomó el 0.1 del volumen producido y se guardó en un recipiente de plástico con tapa rosca, previa filtración en papel de filtrado rápido. Así, al final de cada prueba de digestibilidad se obtuvo una muestra/animal que se conservó en congelación ( $-20^{\circ}\text{C}$ ), para su análisis en laboratorio.

La recolección de heces se realizó dos veces al día (0830 y 2000 h); con espátulas de plástico se limpiaban los pisos de rejilla y las mallas colectoras, con la finalidad de reducir al máximo la contaminación de la orina al pasar a través de la malla de plástico que soportaba las heces. Las heces se recolectaron en bandejas plásticas. La cantidad generada por animal cada 24 h se homogenizó y pesó en una balanza. Se guardó 0.1 de la masa de cada una de las muestras en una bolsa de plástico y se congeló ( $-20^{\circ}\text{C}$ ), para

posteriormente cuantificar la pérdida de humedad. Los resultados se utilizaron para calcular la producción de materia seca fecal.

### **Análisis de laboratorio**

Las muestras obtenidas en la fase experimental se analizaron en los laboratorios del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la FMVZ-UNAM.

#### ***Muestras del alimento ofrecido, rechazado y heces***

Se deshidrataron en un horno de desecación a 60°C hasta peso constante, se molieron a un tamaño de partícula de 0.2 mm y se cuantificaron: la humedad (Método 934.01), la MS (Método 934.01), la materia inorgánica (MO) (Método 925.05), la proteína cruda (PC; Método 954.01) por Kjeldalh (AOAC, 2000) y los componentes de la pared celular: fibra detergente neutro (FDN) con alfa amilasa y fibra detergente ácido (FAD) de acuerdo con el método de Van Soest *et al.* (1991) sin corrección de cenizas. Las muestras deshidratadas se llevaron a la mufla (450°C) para permitir la calcinación del material durante 12 h. Las cenizas obtenidas se pesaron, se suspendieron en 10 mL de HNO<sub>3</sub> (100 mL/L) y se llevaron a volumen con agua destilada (soluciones madre). En las soluciones madre se cuantificó el P total (Pt) por fotometría (Miles *et al.*, 2001). Las absorbancias se midieron en un espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 10Vis, Thermo Scientific Inc. NYSE:TMO).

#### ***Muestras de orina***

Se descongelaron y mezclaron perfectamente, se filtraron (Whatman 1) y se tomaron 10 mL del filtrado, que se colocaron en un cristizador y se calentaron a baja temperatura durante 20 min para permitir su evaporación. Los cristizadores con la orina se llevaron al horno de deshidratación (75°C) por 12 h y se midió el Pt de la misma manera descrita para las muestras de alimento ofrecido, rechazado y heces.

## Cálculos y análisis estadísticos

Los cálculos que se realizaron se presentan en el cuadro 3:

**Cuadro 3.** Cálculos experimentales.

Cálculo	Fórmula	Ecuación
Consumo de materia seca	$CMS (g/d) = \text{alimento ofrecido} - \text{alimento rechazado}$	1
Digestibilidad de la materia seca	$dMS (g/kg \text{ de MS}) = [CMS - \text{heces producidas (g MS/d)}] / CMS \times 1000$	2
Digestibilidad de la materia orgánica	$dMO (g/kg \text{ de MO}) = [CMO - \text{heces producidas (g MO/d)}] / CMO \times 1000$	3
Fósforo total ingerido	$Pt_{ing} (g/d) = CMS \times \text{contenido de Pt en la dieta (g/g de MS)}$	4
Excreción fecal de fósforo total	$Pt_{fec} (g/d) = \text{heces producidas (g MS/d)} \times Pt (g/g \text{ heces})$	5
Fósforo total aparentemente absorbido	$Pt_{abs} (g/d) = Pt_{ing} (g/d) - Pt_{fec} (g/d)$	6
Absorción aparente de fósforo total	$Pt_{AA} (g \text{ Pt/día}) = [Pt_{ing} (g/d) - Pt_{fec} (g/d)] / Pt_{ing} (g/d)$	7
Retención aparente de fósforo total	$Pt_{ret} (g/d) = [Pt_{ing} (g/d) - (Pt_{fec} (g/d) + Pt_{uri} (g/d))]$ $Pt_{uri}$ , es el fósforo urinario	8

El diseño experimental corresponde a una serie de dos cuadrados latinos 3 × 3, cuyo modelo lineal aditivo es:

$$Y = \mu + \theta_i + \rho_j + \gamma_k + \tau_l + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

$\theta_i$  = efecto de la serie (i = 1, 2)

$\rho_j$  = efecto del animal (j = 1, 2, 3)

$\gamma_k$  = efecto del periodo (k = I, II, III)

$\tau_l$  = efecto del tratamiento (l = C, M, G)

$\varepsilon_{ijkl}$  = error experimental

Además se realizaron los siguientes contrastes ortogonales:

G vs C y M

C vs G y M

Los resultados se analizaron estadísticamente con el programa Minitab 17 Statistical Software (2010). [Computer software]. State College, PA: Minitab, Inc. (www.minitab.com). El nivel de significancia fue de  $P < 0.05$  y las tendencias se consideraron a  $P < 0.1$ . Se realizaron análisis de correlaciones (Coeficiente de Pearson) y de regresión entre las diferentes variables de respuesta.

## 6. RESULTADOS

### **Peso vivo**

En el cuadro 4 se presentan los resultados correspondientes al efecto de la partícula de forraje sobre el peso vivo y el peso metabólico de las ovejas. Ambos, no fueron afectados ( $P = 0.409$ ) por los tratamientos experimentales ( $39.03 \pm 0.56$  kg, y  $15.5 \pm 0.16$  kg PV<sup>0.75</sup>, respectivamente). La condición corporal de los animales se mantuvo en  $2.5 \pm 0.5$ , que es adecuada para la etapa de mantenimiento, de acuerdo con la escala de Rusell *et al.* (1969).

**Cuadro 4.** Peso vivo (PV, kg) y peso metabólico (PM, kg PV<sup>0.75</sup>) de ovejas alimentadas con diferente tamaño de partícula de forraje<sup>1</sup>

Item	Tratamientos			EEM <sup>2</sup>	P	Contrastes	
	G	M	C			G vs otras	C vs otras
PV, kg	39.6	39.0	38.5	0.585	0.409	0.278	0.910
PM, kg PV <sup>0.75</sup>	15.7	15.5	15.3	0.163	0.409	0.277	0.913

<sup>1</sup>G=greña; M=media, 5.08 cm; C=chica, 2.54 cm

<sup>2</sup>EEM=error estándar de la media

### Consumo y digestibilidad de nutrimentos

El cuadro 5 presenta los consumos, con base en el peso metabólico de MS (75 g/kg PV<sup>0.75</sup>), MO (70.5 g/kg PV<sup>0.75</sup>), FND (49 g/ kg PV<sup>0.75</sup>) y FDA (32 g/kg PV<sup>0.75</sup>). Ninguna de estas variables de respuesta fue afectada por el tamaño de partícula (P > 0.05). Las digestibilidades de la MS (59.53 g/100 MS), MO (62.9 g/100 g MS), FDN (62.9 g/100 g MS), FDA (58.4 g/100 g MS) y lignina detergente ácido (49.9 g/100 g MS) tampoco se vieron afectadas (P > 0.05) por el tamaño de partícula del heno.

### Balance de N

El balance de N (cuadro 6) fue positivo (1.4 ± 1.0 g N/d). Así mismo no se mostraron diferencias significativas (P>0.05) para la ingestión de N (23.1 g N/d), y su excreción urinaria (5.0 g N/d) entre tratamientos (P > 0.05), en cuanto a la excreción de N en heces, este mostro una tendencia (P= 0.006) siendo superior para G, con respecto al resto.

**Cuadro 5.** Consumo (g/kg PV<sup>0.75</sup>) y digestibilidad (g/100 g) de tres dietas para ovejas en mantenimiento alimentadas con diferentes tamaños de partícula de forraje.

Item	Tratamientos			EEM	Valor de P			Contrastes	
	G	M	C		Animal	Periodo	Tratamiento	G vs otras	C vs otras
Kg PV <sup>0.75</sup>	15.7	15.5	15.3	0.16	<0.001	0.410	0.409	0.277	0.913
<b>Consumo, g Kg PV<sup>0.75</sup></b>									
MS	75.5	74.8	74.9	3.56	0.250	0.552	0.989	0.963	0.927
MO	71.6	70.5	70.3	3.39	0.267	0.663	0.959	0.854	0.925
FND	48.0	48.7	51.3	2.54	0.261	0.210	0.638	0.368	0.771
FDA	32.0	32.1	33.1	1.62	0.178	0.106	0.858	0.593	0.802
<b>Digestibilidad, g/100 g</b>									
MS	61.3	56.5	60.8	2.56	0.011	0.766	0.391	0.550	0.185
MO	64.7	60.2	63.8	2.35	0.011	0.767	0.396	0.635	0.193
FDN	63.1	60.8	64.8	2.41	0.009	0.553	0.530	0.364	0.319
FDA	59.9	55.6	59.7	2.82	0.010	0.384	0.509	0.588	0.260
LDA	48.8	52.0	48.9	5.38	0.169	0.184	0.895	0.821	0.649

MS = materia seca; MO = materia orgánica; FND = fibra detergente neutro; FDA = fibra detergente ácido; LDA = lignina detergente ácido.

G = forraje en greña (partícula grande); M = tamaño mediano de partícula (5.08 cm); C = tamaño chico de partícula (2.54 cm).

EEM = error estándar de la media.

**Cuadro 6.** Balance de N ( g/d) en ovinos alimentados con diferentes tamaños de partícula de forraje.

Item	Tratamientos			EEM	Valor de P			Contrastes	
	G	M	C		Animal	Periodo	Tratamiento	G vs otras	C vs otras
N consumido	23.1	26.3	23.3	0.64	0.001	0.787	0.968	0.809	0.875
N excretado									
N heces	7.8	8.6	7.0	0.72	0.006	0.370	0.368	0.226	0.230
N orina	6.7	4.5	3.7	1.11	0.287	0.278	0.221	0.210	0.639
Balance de N	10.2	10.4	12.4	0.60	0.002	0.529	0.969	0.890	0.917

G = forraje en greña (partícula grande); M = tamaño mediano de partícula (5.08 cm); C = tamaño chico de partícula (2.54 cm).

EEM = error estándar de la media.



## Calcio y fósforo

El tamaño de partícula del forraje no afectó ( $P > 0.05$ ) el consumo y la excreción fecal de Ca. Así mismo no hubo diferencias ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos en el consumo de P (3.9 g P/d) o su excreción fecal (2.52 g P/d); sin embargo, la excreción urinaria de P tendió a ser menor ( $P = 0.07$ ) en las ovejas que recibieron la partícula M. En general, el balance de P fue positivo (1.3 g P/d;  $P > 0.05$ )

### 1) Relación global entre P fecal e ingerido

$P_{\text{fecal}} \text{ (g/día)} = 0.416 + 0.539 \times P_{\text{ing}} \text{ (g/día)}$ .  $P = 0.001$ ,  $r_{sd} = 0.486$ ,  $r^2 \text{ (adj)} = 0.45$ ,  $n = 18$

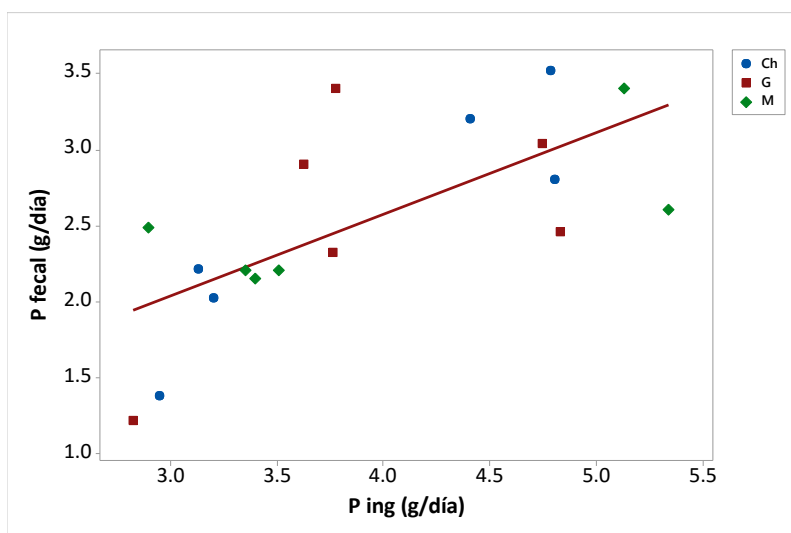


Figura 1. Relación entre el fósforo fecal (P fecal) y el ingerido (P ing) en ovejas en mantenimiento, alimentadas con diferentes tamaños de partícula de forraje (C, 2.54 cm; M, 5.08 cm; G, greña).

2) Relación global entre P absorbido e ingerido

$P_{abs} \text{ (g/día)} = -0.416 + 0.461 \times P_{ing} \text{ (g/día)}$ .  $P = 0.005$ ,  $rsd = 0.486$ ,  $r^2 \text{ (adj)} = 0.37$ ,  $n = 18$

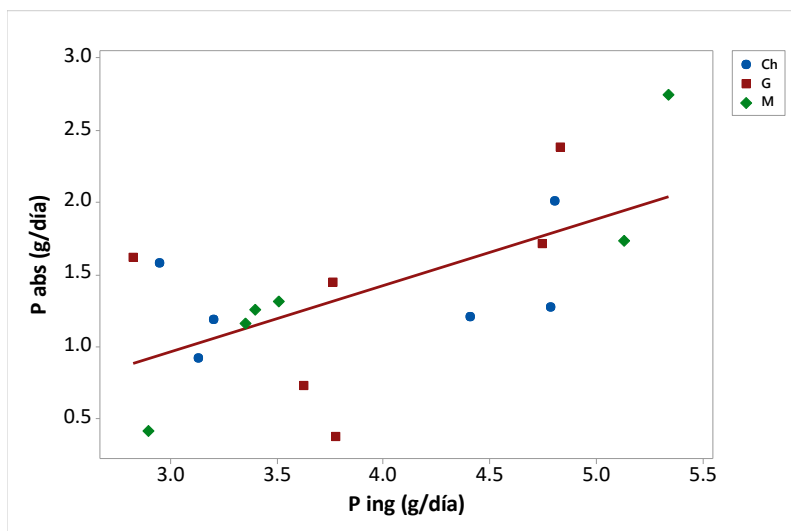


Figura 2. Relación entre el fósforo absorbido (P abs) e ingerido (P ing) en ovejas en mantenimiento, alimentadas con diferentes tamaños de partícula de forraje (C, 2.54 cm; M, 5.08 cm; G, greña).

### 3) Relación global entre P balance y P absorbido

Balance de P (g/día) =  $-0.033 + 1.005 \times P_{\text{abs}}$  (g/día),  $P < 0.001$ ,  $\text{rsd} = 0.014$ ,  $r^2$  (adj) = 0.99,  $n = 18$

Esta relación presentó el efecto del tamaño de partícula de forraje ( $P = 0.012$ ). Así, las ecuaciones obtenidas fueron:

Partícula chica: Balance de P (g/día) =  $-0.029 + 1.005 \times P_{\text{abs}}$  (g/día)

Partícula grande: Balance de P (g/día) =  $-0.044 + 1.005 \times P_{\text{abs}}$  (g/día)

Partícula mediana: Balance de P (g/día) =  $-0.022 + 1.005 \times P_{\text{abs}}$  (g/día)

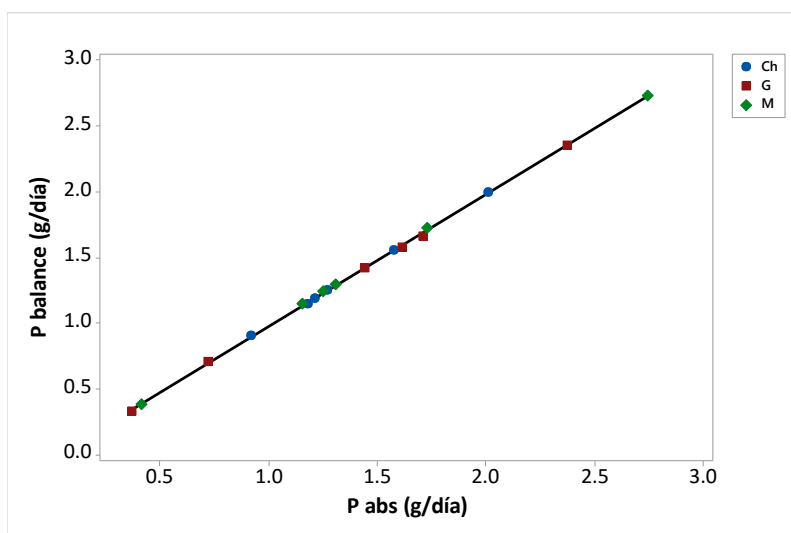


Figura 3. Relación entre el balance de fósforo (P balance) y el fósforo absorbido (P abs) en ovejas en mantenimiento, alimentadas con diferentes tamaños de partícula de forraje (C, 2.54 cm; M, 5.08 cm; G, greña).

4) *Relación global entre la excreción fecal de Ca y de P*

$$\text{Ca}_{\text{fecal}} (\text{g/día}) = -1.71 + 4.042 \times \text{P}_{\text{fecal}} (\text{g/día}), P < 0.001, \text{rsd} = 2.282, r^2 (\text{adj}) = 0.56, n = 18$$

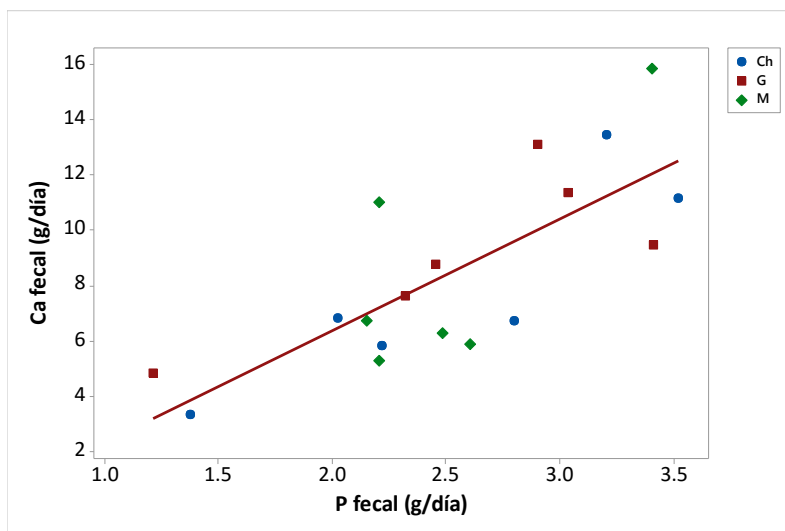


Figura 4. Relación entre el calcio fecal (Ca fecal) y el fósforo fecal (P fecal) en ovejas en mantenimiento, alimentadas con diferentes tamaños de partícula de forraje (C, 2.54 cm; M, 5.08 cm; G, greña).

5) Relación global entre el P fecal y la FDA ingerida

$$P_{\text{fecal}} \text{ (g/día)} = 0.684 + 0.004 \times \text{FDA}_{\text{ing}} \text{ (g/día)}, P = 0.001, \text{rsd} = 0.484, r^2 \text{ (adj)} = 0.48, n = 18$$

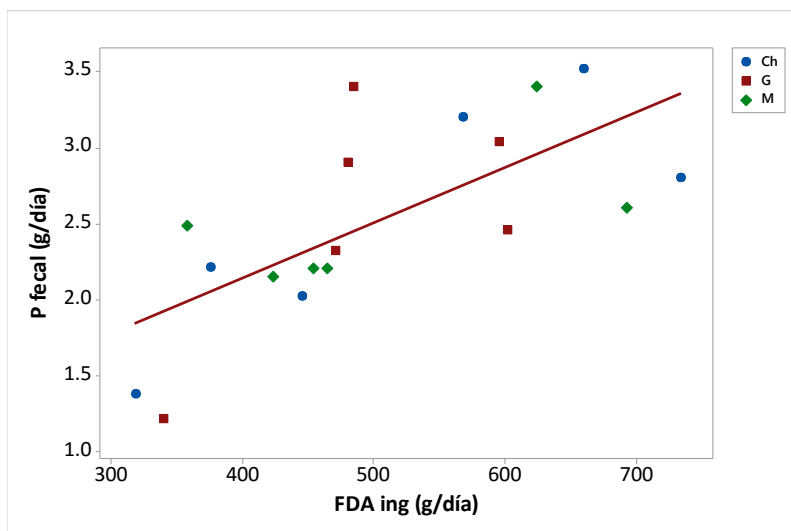


Figura 5. Relación entre el fósforo fecal (P fecal) y la fibra detergente ácido ingerida (FDA ing) en ovejas en mantenimiento, alimentadas con diferentes tamaños de partícula de forraje (C, 2.54 cm; M, 5.08 cm; G, greña).

6) *Relación global entre la excreción fecal de N y la ingestión de P*

$$N_{\text{fecal}} \text{ (g/día)} = -1.04 + 2.271 \times P_{\text{ing}} \text{ (g/día)}, P = 0.006, \text{rsd} = 2.478, r^2 \text{ (adj)} = 0.35, n = 18$$

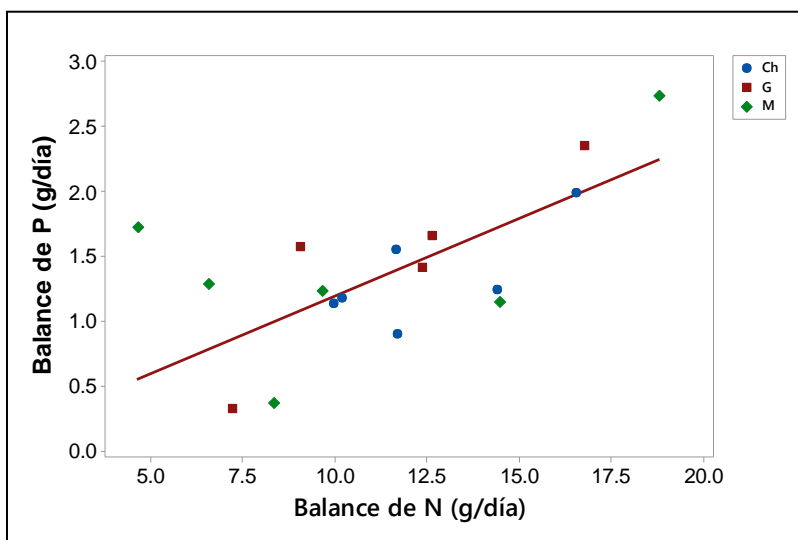


Figura 6. Relación entre los balances de fósforo (P) y nitrógeno (N) en ovejas en mantenimiento, alimentadas con diferentes tamaños de partícula de forraje (C, 2.54 cm; M, 5.08 cm; G, greña).

7) *Relación global entre el P fecal y el N ingerido*

$$P_{\text{fecal}} (\text{g/día}) = 0.416 + 0.090 \times N_{\text{ing}} (\text{g/día}), P = 0.001, \text{rsd} = 0.486, r^2 (\text{adj}) = 0.45, n = 18$$

La constante del modelo de regresión no fue significativa ( $P > 0.05$ ) por lo que su forma simplificada es la siguiente:

$$P_{\text{fecal}} (\text{g/día}) = 0.107 \times N_{\text{ing}} (\text{g/día}), P = 0.001, \text{rsd} = 0.479, r^2 (\text{adj}) = 0.96, n = 18$$

8) *Relación global entre el P fecal y el N fecal*

$$P_{\text{fecal}} (\text{g/día}) = 1.406 + 0.143 \times N_{\text{fecal}} (\text{g/día}), P = 0.002, \text{rsd} = 0.501, r^2 (\text{adj}) = 0.42, n = 18$$

9) *Relación global entre el balance de P y el de N*

$$\text{Balance P (g/día)} = 0.275 + 0.098 \times \text{Balance N (g/día)}. P = 0.005, \text{rsd} = 0.488, r^2 (\text{adj}) = 0.38, n = 18$$

La constante del modelo de regresión no fue significativa ( $P > 0.05$ ); así, su forma simplificada es la siguiente:

$$\text{Balance de P (g/día)} = 0.120 \times \text{Balance N (g/día)}, P < 0.001, \text{rsd} = 0.483, r^2 (\text{adj}) = 0.36, n = 18$$

## 7. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del tamaño de partícula del forraje en la utilización digestiva y retención del P alimentario en borregas en etapa de mantenimiento. Para ello se utilizó la técnica de digestibilidad aparente.

García Robledo (2014) realizó un estudio relacionado con el tamaño de partícula en ovinos y no encontró diferencias en cuanto al consumo de MS y de MO, los cuales no fueron afectados ( $P > 0.05$ ) por los tamaños de forraje utilizados. Sin embargo, los consumos de MS y MO de las ovejas de ese trabajo estuvieron aproximadamente  $22 \text{ g/kg PV}^{0.75}$  por debajo de los observados en el presente estudio, a pesar de que el peso metabólico de las ovejas utilizadas por García Robledo (2014) fue de 18.52 kg. Además de las diferencias en el consumo de alimento, existen también diferencias en las razas ovinas utilizadas entre el trabajo de García Robledo (2014) –cruza de ovejas East Friesian  $\times$  Pelibuey, animales más ligeros– y el presente estudio –ovejas de raza cárnica (Suffolk)–. Otra diferencia entre ambos trabajos fue la inclusión de heno de avena: 60% en el presente estudio y 80% en el caso de García Robledo (2014). En lo referente a la digestibilidad de la MS de la dieta, ésta no difirió de los valores reportados para ovinos, desde 243 a 815 g/kg MS (Ríaz *et al.*, 2014).

El P excretado vía fecal fue de 65.33 g/100 g de P ingerido. La excreción fecal es la vía más importante en los rumiantes adultos para eliminar el elemento y, de acuerdo con Spiekens *et al.* (1993), el P fecal puede provenir de tres fuentes: 1) el P no utilizable de la dieta, 2) la pérdida inevitable excretada en condiciones nutricionales o fisiológicas normales, y 3) la pérdida regulada dependiente del exceso de P en el alimento. La segunda fracción comprende la pérdida endógena de P, la que puede representar hasta 95% en dietas basadas en forrajes, cuyo contenido de P es mayoritariamente inorgánico (Bravo *et al.*, 2003). En este caso, el heno de avena constituyó el 60% de la dieta y aportó 20 g P/kg MS. Por ello, puede considerarse que una fracción importante del P fecal fue de naturaleza endógena, que corresponde principalmente al P salival no absorbido y que está influida por factores como el consumo de MS, las características físicas de la dieta y la concentración de P dietario (Bravo *et al.*, 2003). La ingestión de P explicó 45% de la



variación en su excreción fecal; esta relación también fue consignada para ovejas en mantenimiento Pelibuey × East Friesian (García Robledo, 2014):  $P_{\text{fecal}} \text{ (g/día)} = 0.419 + 0.724 \times P_{\text{ing}} \text{ (g/día)}$ , con una  $r^2 = 0.44$ . El Ca fecal estuvo relacionado con el P fecal ( $r^2 \text{ (adj)} = 0.56$ ). Las dietas de este trabajo tuvieron una relación Ca:P de 1:1. Kebreab *et al.* (2005) plantearon la posibilidad de que en el intestino, y en función del pH, el Ca y el P formen complejos insolubles, lo que explicaría la relación entre Ca y P fecal encontrada. El P fecal estuvo también relacionado con la FDA ingerida, lo que se explicaría por la distribución de los minerales en el vegetal. Sin embargo, el dispositivo experimental no permite comprobar esta hipótesis.

El P aparentemente absorbido (P digestible) en el sistema digestivo de las ovejas que recibieron los diferentes tamaños de partículas, representó 34.67 g/100 g de P ingerido, lo cual se encuentra dentro del rango reportado en otras investigaciones, como la de Wu *et al.*, (2003; 33.05 g/100 g de P ingerido), quienes evaluaron los efectos de la proporción de forraje y el contenido dietario de P en la excreción fecal de P de vacas Holstein en lactación media. En el presente estudio, el P ingerido explicó 37% de la variación en el P aparentemente absorbido, relación que ha sido observada en vacas lecheras (Wu *et al.*, 2000; Knowlton y Herbein, 2002; Dou *et al.*, 2003), en cabras lecheras (Ramírez-Pérez, 2007) y en ovejas East Friesian × Pelibuey en mantenimiento (García Robledo, 2014). En referencia a las ovejas en mantenimiento la relación reportada para la absorción de fósforo es de  $P_{\text{abs}} \text{ (g/día)} = -0.427 + 0.303 \times P_{\text{ing}} \text{ (g/día)}$ , la que es similar a la de presente estudio. Aunado a esto, los coeficientes de determinación en los trabajos con pequeños rumiantes se pueden considerar cercanos a lo encontrado en el presente estudio (0.37): 0.39 (Ramírez-Pérez, 2007) y 0.28 (García Robledo, 2014). Es importante resaltar que el valor negativo de la constante en las ecuaciones de regresión obtenidas en los tres estudios, se asociaría a una importante pérdida fecal de P cuando la dieta es pobre en su contenido. Read *et al.* (citados por Grünberg, 2014) mencionan que cuando la dieta es pobre en P, puede observarse que el P fecal no cambia o incrementa, aunque la excreción fecal total de P disminuye. Esto iría en sentido opuesto a las relaciones observadas en los estudios mencionados anteriormente.

La pregunta sobre el efecto del tamaño de partícula en las variables consideradas para el balance de P ha sido planteada por diferentes autores por su efecto en la masticación y la producción de saliva. Jarret *et al.* (2014) estudiaron el efecto del tamaño de partícula de heno (6.35 y 0.64 cm) y de fitasas exógenas en el sitio y grado de digestión del P en vacas en lactación ( $188 \pm 35$  días en producción). Sus resultados muestran que, a pesar de la diferencia del tamaño de la partícula del heno (9.9 veces), no se afectaron ( $P > 0.05$ ) ni el consumo ni la digestibilidad de la MS ni el balance de P ( $P < 0.71$ ). García Robledo (2014) encontró también la siguiente relación: Balance de P (g/día) =  $-0.013 + 0.985 \times P_{\text{abs}}$  (g/día) y, de forma similar, encontró un efecto del tamaño de partícula sobre esta relación:

	García Robledo (2014)	García Asiain (2016)
Chica	Balance de P (g/día) = $-0.011 + 0.511 \times P_{\text{abs}}$ (g/día)	= $-0.029 + 1.005 \times P_{\text{abs}}$ (g/día)
Mediana	Balance de P (g/día) = $-0.006 + 0.489 \times P_{\text{abs}}$ (g/día)	= $-0.022 + 1.005 \times P_{\text{abs}}$ (g/día)
Grande	Balance de P (g/día) = $-0.006 + 0.543 \times P_{\text{abs}}$ (g/día)	= $-0.044 + 1.005 \times P_{\text{abs}}$ (g/día)

En este trabajo, la pendiente (el incremento) de las tres ecuaciones fue la misma (1.005), pero la constante fue 1.5 veces más importante para el heno en greña (-0.044). El P absorbido explicó 99% de la variación en el balance de P.

Como se mencionó en los resultados, las variables utilizadas para el cálculo de balances de N y P estuvieron relacionadas entre sí. Dado que los balances comprenden estas variables y ellos estuvieron relacionados, ( $r^2$  (adj) = 0.89), sólo se discute esta última relación. Grünberg (2014) alude al tejido muscular como el indicador ideal del estatus de P del individuo. Después de varias semanas bajo un régimen alimentario carente en P, el contenido muscular de P disminuyó de forma más importante que el P sérico. Este autor comenta los escasos estudios realizados en rumiantes a propósito de este tema y, además, relaciona la duración de los periodos de carencia con la remoción del P del tejido óseo: la alimentación con una dieta carente en el elemento durante un largo periodo provocaría la resorción de fósforo de los huesos. La relación observada entre los balances de N y P pudiera explicarse por el hecho de que ambos elementos son indispensables para que el tejido muscular tenga un

desempeño metabólico adecuado. Moreiras *et al.* (2013) reportan que la composición de 100 g de carne fresca de ovino contiene prácticamente siete veces (6.98) más N (2,720 mg) que P (190 mg). La ecuación encontrada [Balance de P (g/día) = 0.120 × Balance N (g/día)] indica que el N retenido en el organismo es doce veces superior al P retenido, cantidad que supera a la reportada únicamente para el músculo.

## **Conclusiones**

El fósforo es el mineral más importante del metabolismo; en el caso de los rumiantes, su reciclaje salival es fundamental para mantener el ecosistema ruminal. En este trabajo se formularon dos hipótesis, asociadas de manera directamente proporcional a las excreciones fecal y urinaria del P y del Ca. Así, bajo las condiciones experimentales aquí presentadas, se concluye que tamaños de partícula de 2.54 cm, 5.08 cm y heno en greña no afectaron los balances de Ca o P así como de los otros nutrimentos analizados (nitrógeno, fibra detergente neutro y fibra detergente ácido).

## 8. REFERENCIAS

1. AD Care. (1994). The absorption of phosphate from the digestive tract of ruminant animals *British Veterinary Journal*, Elsevier
2. Abdel-hafeez, H.; Mañas-Almendros; Ross, R.; Care, A. (1982). Effects of dietary phosphorus and calcium on the intestinal absorption of Ca in sheep. *British Journal of Nutrition*, 47, 69-77.
3. Barrios M, Sandoval E, Camacaro O, Borges J. (2010). Importancia del fósforo en el complejo suelo-animal - *Mundo Pecuario*.
4. Berndt, T.; Thomas, L.; Graig, T.; Sommer, S.; Li, X.; Bergstralh, E. (2007). Evidence for a signal axis by which intestinal phosphate rapidly modulate renal phosphate reabsorption. *Proceedings National Academic Science* 104(26), 11085–11090.
5. Bourquin, L.D.; Titgemeyer, N.R.; Merchen N.R. y Fahey G.C. Jr. (1994). Forage level and particle size effects on orchard grass digestion by steers: I. Site and extent of organic matter, nitrogen, and cell wall digestion. *Journal of Animal Science*, 72, 746-758.
6. Braithwaite, G.D. (1986). Phosphorus requirements of ewes in pregnancy and lactation. *Journal of Agricultural Science*, 106, 271–278.
7. Bravo, D.; Sauvant. D.; Bogaert, C.; Meschy, F. (2003). I. Quantitative aspects of phosphorus absorption in ruminants. *Reproduction Nutrition Development* 43: 271-248. Disponible en URL: [http://rnd.edpsciences.org/index.php?option=com\\_article&access=standard&Itemid=129&url=/articles/rnd/pdf/2003/03/R3302.pdf](http://rnd.edpsciences.org/index.php?option=com_article&access=standard&Itemid=129&url=/articles/rnd/pdf/2003/03/R3302.pdf)
8. Breves, G.; Ross, R.; Höler, H. (1985). Dietary phosphorus depletion in sheep: effects on plasma inorganic phosphorus, calcium, 1,25-(OH)<sub>2</sub>-Vit.D<sub>3</sub> and alkaline phosphatase and on gastrointestinal P and Ca balances. *The Journal of Agriculture Science* 105(3), 125-140.
9. Breves, G.; Schröder, B. (1991). Comparative aspects of gastrointestinal phosphorus metabolism. *Nutrition research reviews* 4(1), 125-140.

10. Busche, R.; Schröder, R.; Huber, K.; Sallmann, H. (2007). The effect of dietary phosphorus deficiency on surface pH and membrane composition of the mucosa epithelium in caprine jejunum. *Journal of Comparative Physiology B.* 177(1), 135-142.
11. Capulin, G. J., E. R. Nuñez, B. J. Etchevers, y C. G. Baca. (2001). Evaluación del extracto líquido de estiércol bovino como insumo de nutrición vegetal en hidroponía. *Agrociencia* 35, 287-299
12. Carro (2001). La determinación de la síntesis de proteína microbiana en el rumen: comparación entre marcadores microbianos (Revisión) Dpto. de Producción Animal I, Universidad de León. *Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim.* 16.
13. Churc. (1994). *El rumiante, fisiología digestiva y nutrición.* Barcelona, Acribia, 641p.
14. Cohen, R.D.H. (1980). Phosphorus in rangeland ruminant nutrition: A review. *Livestock Producton Science*, 7(1), 25-37.
15. Departamento de Desarrollo Económico y Social. Dirección de Género, Equidad y Empleo Rural, *Actividades de la FAO en México*, (2009). Disponible en: <http://www.fao.org/economic/esw/esw-home/es>
16. Dhanoa MS, Siddons RC, France J, Gale DL. (1984). A multicompartmental model to describe marker excretion patterns in ruminant feaces. *British Journal of Nutrition.* 53, 663-671
17. Díaz-Vargas. M.; Elizalde, A.E.; Quiroz, C.H.; García, R.J. y Molina, E.I. (2004). Caracterización de algunos parámetros físico químicos del agua y sedimento del lago Zempoala, Morelos, México. *Acta Universitaria*, 15, 57-65.
18. Dietz, F. J., and N. J. P. Hoogervorst. (1991). Towards a sustainable and efficient use of manure in agriculture: the Dutch case. *Environ. Resour. Econ.* 1, 313-332.
19. Dou, Z.; Ferguson, J.D.; Fiorini, J.; Toth, J.D. y Alexander, S.M.; Chase, L.E.; Ryan, C.M.; Knowlton, K.F.; Kohn, R.A.; Peterson, A.B.; Sims, J.T. y Wu, Z. (2003). Phosphorus feeding levels and critical control points on dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 86(11), 3787-3795.

20. Duke, H. H., & Swenson, M. J. (1970). *Duke's Physiology of Domestic Animals*. Comstock, a Division of Cornell University Press.
21. Durand, M.; Komisarczuk-Bony, S.; Meschy, F. (1989). Phosphorus requirement for rumen microbial activity. En *Recent Progress on Mineral Nutrition and Mineral Requirements in Ruminants*. Kyoto, Japon, 27-34.
22. Ekelund, A. (2003). Phosphorus and the dairy cow. Tesis de doctorado. Uppsala, Suecia, *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae*.
23. Ekelund, A.; Spörndly, R. y Holtenius, K. (2006). Influence of low phosphorus intake during early lactation on apparent digestibility of phosphorus and bone metabolism in dairy cows. *Livestock Science*, 99, 227-236.
24. Ekelund, A.; Spörndly, R.; Valk, H. y Murphy, M. (2003). Influence of feeding various phosphorus sources on apparent digestibility of phosphorus in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 109, 95-104.
25. Elices R, Mínguez, M, Morán C. (2006). Técnica quirúrgica para la canulación ruminal en ovino. - *Producción Animal*.
26. Ellis, L.; Tillman, D. (1961). Utilization of phytin phosphorus in wheat Bran by sheep *Journal Animal Science*. 20, 606-607.
27. Field, A.; Suttle, N.; Nisbed, D. (1975). Effect of diets low in calcium and phosphorus on the development of growing lambs. *The Journal Agricultural Science*, 85, 435-442.
28. García R A. (2014). Tesis de Maestría. Efecto del tamaño de la partícula del forraje en la retención y concentración plasmática y salival de fósforo en borregas en mantenimiento. Universidad Nacional Autónoma de México.
29. Genovez, C.F.; Ayala, B.A.J.; Sandoval, C.C.A.; Cetina, G.R. y Reyes, R.R. (2008). Efecto del tamaño de partícula de la fibra en la dieta sobre la conducta ingestiva, digestión de nutrientes y suministro de proteína microbiana al duodeno de bovinos. *Revista Científica*, 18, 180-187.

30. Georgievski, V. I. (1982). The physiological role of macroelements in VI Georgievski., BN Annenkov and VI Samokhin (eds): Mineral Nutrition of Animals. *Studies in the Agricultural and Food Sciences*, 137-147.
31. Godoy S, Meschy F, Chicco C. Phosphorus digestibility of different feeds in sheep Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. INIA-CENIAP. INRA, Laboratoire de Nutrition et alimentation. 16, Paris.
32. Godoy, S., Chicco, C (2005). Actividad fitásica in vitro de los microorganismos del rumen y degradación in situ de un sustrato fibroso en ovinos alimentados con diferentes regímenes. *Zootecnia Trop*, 23(1), 61-68.
33. Godoy, S., Chicco, C (2005). Metodologías de investigación para estimar la biodisponibilidad de los minerales en rumiantes. Instituto de Investigaciones Agrícolas (INIA). Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP). 129-149.
34. Godoy, S.; Meschy, F. (2001). Utilisation of phytate phosphorus by rumen bacteria in a semicontinuous culture system (Rusitec) in lactating goats fed on different forage to concentrate ratios. *Reprod. Nutr. Dev. INRA, EDP Sciences*, 259–265.
35. Grünberg, G. (2003). Control y gestión ambiental de los territorios indígenas en Centroamérica. *WANI (Oct-Dec)*, 35, 6–42.
36. Hadjigeorgiou, I.E.; Gordon, I.J. y Milne, J.A. (2003). Comparative preference by sheep and goats for *Graminae* forages varying in chemical composition. *Small Ruminant Research*, 49(2), 147-156.
37. Hays, V W., Swenson, M J., (1993). Minerals in Dukes Physiology of domestic animals 11 Edition, Swenson M J and W O Reece ed. Cornell University Press, Ithaca, NY. 517-535
38. Hilfiker H, Hattenhauer O, Traebert M, Forster I, Murer H, and Biber J. (1998). Characterization of a murine type II sodiumphosphate cotransporter expressed in mammalian small intestine. *Proceedings National Academic Science USA* 95: 14564–14569.



39. Huber K, Walter C, Schröder B, Biber J, Murer H, and Breves G. (2000). Epithelial phosphate transporters in small ruminants. *Ann NY Acad Sci*, 915, 95–97.
40. Kebreab, E.; Shah, M.A.; Beever, D.E.; Humphries, D.J.; Sutton, J.D.; France, J. y Mueller-Harvey, I. (2005). Effects of contrasting forage diets on phosphorus utilisation in lactating dairy cows. *Livestock Production Science*, 93, 125-135.
41. Kinkaid, R.; Rodehutschord, M. (2005). Phosphorus metabolism in the rumen.
42. Knowlton, K.F., Herbei, J.H. (2002). Phosphorus Partitioning During Early Lactation in Dairy Cows Fed Diets Varying in Phosphorus Content. *Journal of Dairy Science*, 85 (5), 1227-1236.
43. Konishi C., Matsui T., Park W., Yano H., Yano F. (1999). Heat treatment of soybean meal and rapeseed meal suppresses rumen degradation of phytate phosphorus in sheep, *Anim. Feed Sci. Technol.* 80, 115–122.
44. Lachmann M, Araujo O. (1999). Estimación de la digestibilidad en ensayos con rumiantes. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Zulia Maracaibo, Venezuela.
45. Li YL, Beauchemin KA, McAllister TA, Yang WZ. (2014). Intakes and excretion route of nitrogen, phosphorous and sulfur by finishing beef heifers fed increasing levels of wheat dried distillers grains with solubles to substitute for barley grain and barley silage. *Livestock Science*. 170, 43-52.
46. Lofgreen, P.; Kleiber, M.; Smith, H. (1952). The excretion of injected P<sup>32</sup> into the gastrointestinal tract of the young calf. *The Journal of Nutrition* 47, 561–569.
47. McDougall, E. (1948). Studies on ruminant saliva. The composition and output of sheep's saliva. *Biochemical Journal* 43, 99–109.
48. McDowell, L. (1997). Minerals for grazing ruminant in tropical regions. Florida, University of Florida, 81.
49. McGrath, J.J.; Savage, D.B.; Nolan, J.V.; Elliott, R. (2012). Phosphorus and calcium retention in steers fed a roughage diet is influenced by dietary 25OH-vitamin D. *Animal Production Science* 52:636-640. Disponible en URL: <http://dx.doi.org/10.1071/AN11293>

50. Medrano J.A., (2000), Recursos Animales Locales del Centro de México, Arch. Zootec 49, 385-390
51. Mejia-Haro, I.; Brink, D.; Fajardo-Peña, J.; Ortiz-de la Rosa, B. (2001). Effects of different ca: p ratios in lamb diets on apparent absorption and retention of phosphorus. *Agrociencia* 35, 497-502.
52. Miller, J. J. (2001). Impact of intensive livestock operations on water quality. *Proc. Western Canadian. Dairy Seminar* 13, 405-416.
53. Miner, J. R., F. J. Humenik, and M. R. Overchash. (2000). *Managing Livestock Wastes to Preserve Environmental Quality. Environmental Quality. Iowa State Univertisy Press. Ames, IA, USA. 318.*
54. Minitab (2010), version 16; Minitab, Inc.
55. Montgomery, J.; Blanton, J.; Horst, R.; Galyean, M.; Marrow, K.; Wester, D.; Miller, M. (2004). Effects of biological type of beef steer on vitamin D, calcium and phosphorus status. *Journal of Animal Science*, 82, 2043-2049.
56. Moore, J.E. y Undersander, D.J. (2000). Relative forage quality: an alternative to relative feed value and quality index. *Proceedings 13th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium.*
57. Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C.(3013). *Tablas de composición de alimentos. Guía de prácticas. 16ª ed. Madrid: Ediciones Pirámide.*
58. Murer H, Hernando N, Forster I, and Biber J. (2000). Proximal tubular phosphate reabsorption: molecular mechanisms. *Physiol Rev* 80, 1373–1409.
59. Murer H, Köhler K, Lambert G, Stange G, Biber J, Forster I. (2002). The renal type IIa Na/Pi cotransporter: structure-function relationships. *Cell Biochem Biophys.* 36(2-3), 215-20
60. National Research Council. (2007). *Nutrient Requirements of Small Ruminants. Washington DC, USA, The National Academy Press.*
61. Nebel, B. J., Wright, R. T. (1993). *Environmental science: the way the world works. Prentice Hall Professional.*

62. Negri, A. (2004). New physiological aspects in the regulation of phosphate metabolism. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo*, 41 (1).
63. Pablo Pizzani (2005). Utilización del fósforo fítico en la alimentación de rumiantes
64. Park W.Y., Matsui T., Yano F., Yano H. (2000). Heat treatment of rapeseed meal increases phytate flow into the duodenum of sheep, *Anim. Feed Sci. Technol.* 88 31–37.
65. Patiño, R.; Barragan, W.; Vergara, O.; Maza, L. (2012). Regulatory mechanisms of phosphorus absorption. *Rev. Colombiana ciencia. Animal* 4, 473-497.
66. Pfeffer P.; Hristov A. (2005). Nitrogen and phosphorus nutrition of cattle. Reducing the environmental impact of cattle operations. London, CABI, 187-193.
67. Pfeffer, E.; Beed, D.; Valk, H. (2005). Phosphorus metabolism in ruminants and requirements of cattle. In: Pfeffer, E.; Hristov, A. Nitrogen and phosphorus nutrition of cattle. Reducing the environmental impact of cattle operations. London, CABI, 195-231.
68. Pinos-Rodríguez J M., García-López J C., Peña-Avelino L Y., Rendón-Huerta J A., González-González C., Tristán-Patiño F. (2012). Environmental regulations and impact of manure generated by livestock operations in some american countries. *Agrociencia*, 46, 359-370.
69. Powers, W. (2009). Environmental challenges ahead for the U.S. dairy industry. *In: Proc. 46th Florida Dairy Production Conference*, Gainesville, 13-24.
70. Ramírez-Ordoñez, S. (2007). Efecto del sistema de siembra y estado de madurez sobre producción y calidad nutricional de siete variedades de avena (*Avena sativa*). Tesis de maestría. Chihuahua, México, Universidad Autónoma de Chihuahua.
71. Ramírez-Pérez, A.H. (2007). Effet de la solubilité de la source du phosphore alimentaire sur l'activité fermentaire dans le rumen et sur son utilisation digestive et metabolique chez la chèvre laitière. Tesis doctoral. Paris, Francia, Institut des Sciences et Technologies.
72. Raun, A.; Cheng, E.; Burroughs, W. (1956). Phytate phosphorus hydrolysis and availability to rumen microorganisms. *J. Agr. Food Chem.* 4, 869–871.

73. Razzaque, M.; Lanske, B. (2007). The emerging role of the fibroblast growth factor-23-klotho axis in renal regulation of phosphorus homeostasis. *Journal of Endocrinology*, 194, 1-10.
74. Reddy, K. R., R. H. Kadlec, E. Flaig, and P. M. Gale. (1999). Phosphorus retention in streams and wetlands: a review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 29, 83-146.
75. Salviano, L. (1996). Efeito de diferentes proporções de cálcio e fósforo sobre as perdas endógenas e absorção real de fósforo em ovinos. Tese (Doutorado) Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Universidade de São Paulo. Piracicaba, 83.
76. Schröder, B.; Failing, K.; Pfeffer, E.; Breves, G. (1995). Mechanism of intestinal phosphate transport in small ruminants. *British Journal of Nutrition* 74(5), 635-648.
77. Schröder, B.; Kaune, R.; Harmeyer, J. (1991). Effects of calcitriol on stimulation of ion transport in pig jejuna mucosa. *The Journal of Physiology*, 433, 451-465.
78. Scott D. y Buchan, W. (1988). The effects of feeding pelleted diets made from either coarsely or finely ground hay on phosphorus balance and on the partition of phosphorus excretion between urine and faeces in the sheep. *Experimental Physiology*, 73, 315–322.
79. Scott, D. (1982). Control of phosphorus balance in ruminants. En: Georgievskii VI, Annenkov BN y Samokhin VT, eds. *Mineral Nutrition of Animals*. London, UK, Butterworths.
80. Shanklin, N. (2001). Effect of form and amount of phosphorus and phytase supplementation on phosphorus utilization by ruminants. Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University. Virginia, US.
81. SIAP. Población ganadera ovina [Database web en línea]. SAGARPA. (2013) [citado el 25 de febrero del 2013] disponible en: <http://www.siap.gob.mx/estadisticabasica>
82. Smith, H.; Kleiber, M.; Black, L.; Baxter, F. (1955). Transfer of phosphate in the digestive tract. II. Sheep. *Journal of Nutrition* 57, 507–527.
83. Ternouth J. H. (1989). Endogenous losses of phosphorus by sheep *The Journal of Agricultural Science*, 113 (03), 291-297.

84. Tomas, F. M. (1973). Parotid salivary secretion in sheep: its measurement and influence on phosphorus in rumen fluid. *Quarterly Journal of Experimental Physiology* 58, 131–138.
85. Tyler Jr., G. (1994). *Ecología y Medio Ambiente: Introducción a la ciencia ambiental, el desarrollo sustentable y la conciencia de conservación del planeta Tierra*. 7ª Edición, Grupo Editorial Iberoamérica. México.
86. Underwood, E.; Suttle, N. (2003). Los minerales en la nutrición del ganado. Zaragoza, 637.
87. Villanueva, G. (2010). Nutrición del ganado: fósforo. Engormix.com.
88. Vitti, D. (2000). Modelos biomatemáticos do metabolismo de fósforo em ovinos e caprinos. Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Universidade de São Paulo, Piracicaba.
89. Vitti, D.; Bueno, I.; Da Silva Filho, J.; Soares, T.; Patiño, R.; Nasser, E.; De Almeida, A.; Sallam, S.; Nascimento Filho, V. (2008). The effect of dietary intake of phosphorus on true absorption and excretion of phosphorus in brazilian Santa Inês Sheep. UK: *Proceedings. Of the British Society of the Animal Science*. Scarborought, 185.
90. Vitti, D.M.S.S.; Kebreab, E.; Lopes, J.B.; Abdalla, A.L.; Carvalhos, F. F.R. de; Resende, K.T. de; Crompton, L.A.; France, J. (2000). A kinetic model of phosphorus metabolism in growing goats. *Journal of Animal Science*, 78, 2706-2712.
91. Walker, D.M. and Al-Ali, S. J. (1987). The endogenous phosphorus excretion of preruminant lambs. *Aust. J. Agric. Res.* 38, 1061-1069.
92. William F, Ganong. (1994). *Tissue Renin-Angiotensin Systems. Current concepts of local regulators in reproductive and endocrine organs. Advances in experimental medicine and biology*. Department of Physiology. University of California, San Francisco California, 377, 94143-0444.
93. Wu, Z.; Satter, L.D. y Sojo, R. (2000). Milk production, reproductive performance, and faecal excretion of phosphorus by dairy cows fed three amounts of phosphorus. *Journal of Dairy Science*, 83(5), 1028-1041.

94. Xu, H.; Bai, L.; Collins, J.; Guishan, F. (2002). Age-dependent regulation of rat intestinal type IIb sodium-phosphate cotransporter by 1,25-(OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub>. *American Journal Physiology Cell Physiology*, 282, 487- 493.
95. Yanke, J.; Bae, D.; Selinger, B.; Cheng, J. 1998. Phytase activity of anaerobic ruminal bacteria. *Microbiology* 144, 1565–1573.
96. Yano, F.; Yano, H.; Breves, G. (1991). Calcium and phosphorus metabolism in ruminants. In: international symposium on ruminant physiology. New York: Academic Press, 277- 295.