

11643
1
2a



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Estudios Superiores
"QUAUTITLAN"

EVALUACION DEL EFECTO DE LA SUPLEMENTACION DE RASTROJO AMONIATIZADO SOBRE LA CINETICA RUMINAL Y DIGESTIBILIDAD EN BORREGOS PELIBUEY

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
ESPECIALIDAD EN NUTRICION ANIMAL
P R E S E N T A :
ARACELI AGUILERA BARREYRO

Asesor: Ph.D. Armando S. Shimada M.
M.S. Fernando Pérez-Gil Romo.

México, D. F.

TEMA CON
FALLA EN CORRIENTE

88



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 está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

INDICE GENERAL

I. RESUMEN	
II. INTRODUCCION	1
III. REVISION BIBLIOGRAFICA	4
III.1. Lignocelulosa y amoniatización	4
III.2. Utilización del complejo lignocelulósico por los microorganismos ruminales	9
III.3. Metabolismo ruminal del nitrógeno no proteínico	29
III.4. Cinética ruminal	42
IV. OBJETIVOS	55
V. MATERIAL Y METODOS	56
VI. RESULTADOS	65
VII. DISCUSION	104
VIII. CONCLUSIONES	126
IX. LITERATURA CITADA	127

INDICE DE CUADROS

I. COMPOSICION QUIMICA DEL RASTROJO DE MAIZ	3
II. EFECTO DE LA AMONIATIZACION DE PAJAS SOBRE SU COMPOSICION LIGNOCELULOSICA	10
III. EFECTO DE LA AMONIATIZACION DE LAS PAJAS SOBRE LA DEGRADACION DE LA LIGNOCELULOSA	17
IV. EFECTO DE LA AMONIATIZACION DE PAJAS SOBRE LA PRODUCCION DE AGV's RUMINALES	28
V. COMPARACION ENTRE LAS CARACTERISTICAS DEL QUIMIOSTATO Y EL RUMEN	43
VI. COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES PARA LAS PRUEBAS METABOLICAS EN OVINOS	58
VII. DISTRIBUCION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES A LOS OVINOS DURANTE LOS 4 PERIODOS DE ESTUDIO	60
VIII. COMPOSICION QUIMICA Y DIGESTIBILIDAD DEL RASTROJO DE MAIZ TRATADO Y SIN TRATAR CON NH ₃	66
IX. TIEMPOS MEDIOS (t _{1/2}) DE DEGRADACION EN RUMEN PARA RASTROJO DE MAIZ TRATADO Y SIN TRATAR CON NH ₃	69
X. CINETICA DE DIGESTIBILIDAD DE NITROGENO <u>in situ</u> DEL RASTROJO DE MAIZ TRATADO Y SIN TRATAR CON NH ₃	69
XI. COMPOSICION QUIMICA DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES	71
XII. CONSUMO DE NUTRIMENTOS Y EXCRECION FECAL DE NITROGENO EN OVINOS ALIMENTADOS CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES	72
XIII. DIGESTIBILIDAD DE MATERIA SECA, NITROGENO Y FRACCIONES DE FIBRA EN LAS DIETAS EXPERIMENTALES	74
XIV. PROPORCIONES DE AGV's Y RELACION ACETATO/PROPIONATO EN RUMEN DE OVINOS ALIMENTADOS CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES	82

XV. CINETICA DE pH EN OVINOS ALIMENTADOS CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES	89
XVI. ESTIMACION DE PRODUCCION RUMINAL DE CO ₂ , ATP Y RENDIMIENTO CELULAR EN OVINOS ALIMENTADOS CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES	91
XVII. CORRELACIONES ENTRE NH ₃ RUMINAL, DIGESTIBILIDAD Y PRODUCTOS DE FERMENTACION RUMINAL EN DIETAS EXPERIMENTALES	94
XVIII. METABOLISMO NITROGENADO DE OVINOS ALIMENTADOS CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES	95
XIX. CINETICA DE LIQUIDOS Y SOLIDOS EN RUMEN DE OVINOS ALIMENTADOS CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES	97
XX. CORRELACIONES ENTRE VOLUMENES (V), FLUJOS (F), TASAS DE DILUCION (D), Y TIEMPOS DE RECAMBIO (Tr) DE LIQUIDOS (L) Y SOLIDOS (S) Y DIGESTIBILIDADES, CONSUMOS, PRODUCTOS DE FERMENTACION RUMINAL Y METABOLISMO NITROGENADO EN RUMEN	99

INDICE DE GRAFICAS

1. CINETICA DE DEGRADACION DE MATERIA SECA <u>in situ</u> DEL RASTROJO DE MAIZ TRATADO (RT) Y SIN TRATAR (RST) CON NH ₃	67
2. CINETICA DE DEGRADACION DE PAREDES CELULARES <u>in situ</u> DEL RASTROJO DE MAIZ TRATADO (RT) Y SIN TRATAR (RST) CON NH ₃	70
3. CINETICA DE DEGRADACION DE MATERIA SECA (MS), NITROGENO (N ₂), FDN, FDA Y HEMICELULOSA (H) DE LA DIETA RST	76
4. CINETICA DE DEGRADACION DE MATERIA SECA (MS), NITROGENO (N ₂), FDN, FDA Y HEMICELULOSA (H) DE LA DIETA RSTU	77
5. CINETICA DE DEGRADACION DE MATEIRIA SECA (MS), NITROGENO (N ₂), FDN, FDA Y HEMICELULOSA (H) DE LA DIETA RT	78
6. CINETICA DE DEGRADACION DE MATERIA SECA (MS), NITROGENO(N ₂), FDN, FDA Y HEMICELULOSA (H) DE LA DIETA RTU	79
7. PRODUCCION PROMEDIO DE AGV's EN RUMEN DE OVINOS ALIMENTADOS CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES	81
8. CINETICA DE PRODUCCION DE AGV's TOTALES EN RUMEN DE OVINOS ALIMENTADOS CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES	81
9. CINETICA DE PRODUCCION DE ACIDO ACETICO EN RUMEN DE OVINOS ALIMENTADOS CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES	85
10. CINETICA DE PRODUCCION DE ACIDO PROPIONICO EN RUMEN DE OVINOS ALIMENTADOS CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES	86

11. CINETICA DE PRODUCCION DE ACIDO BUTIRICO
EN OVINOS ALIMENTADOS CON LAS DIETAS
EXPERIMENTALES

87

12. CINETICA DE PRODUCCION DE $N-NH_3$ EN RUMEN
DE OVINOS ALIMENTADOS CON LAS DIETAS
EXPERIMENTALES

92

INDICE DE FIGURAS

1. MECANISMO DE BIODEGRADACION DE LA CELULOSA	13
2. RUTAS PARA LA DEGRADACION DE HIDRATOS DE CARBONO EN EL RUMEN	21
3. MECANISMO HIPOTETICO DEL TRANSPORTE DE N-UREICO	32
4. ORIGEN Y DESTINO DEL NH ₃ RUMINAL	35

I. RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el metabolismo ruminal en ovinos alimentados con dietas formuladas con rastrojo de maíz tratado y sin tratar con amoníaco anhidro y suplementadas o no con urea. El rastrojo fue tratado con 4% de NH_3 anhidro en base a materia seca, empleando el método Noruego. El rastrojo permaneció bajo tratamiento durante 30 días, posteriormente a los cuales se dejó durante 7 días al aire libre para eliminar el NH_3 excedente. Los rastrosos tratados y sin tratar con NH_3 fueron analizados por medio del análisis químico proximal, fracciones de fibra y desaparición in situ de materia seca, nitrógeno y paredes celulares. Se elaboraron 4 dietas experimentales, consistiendo primordialmente de rastrojo de maíz tratado y no tratado con NH_3 (0 vs 4%) incluyéndose éste en un 50% de la dieta y la suplementación de urea (0 vs 0.5%). Las dietas fueron probadas en 8 borregos Pelibuey con fístula ruminal permanente. Los animales recibieron las dietas durante 4 períodos de 21 días cada uno, de los cuales 14 fueron de acostumbramiento y en los siguientes 7 días se realizó la recolección total de heces para determinar la digestibilidad aparente de materia seca, nitrógeno y fracciones de fibra. Por otro lado, durante estos 7 días se llevó a cabo la determinación de la desaparición in situ de materia seca, nitrógeno y fracciones de fibra a las 0, 1.5, 3, 6, 12 y 24 h y la digestibilidad in vitro de materia seca a las 48 h; además se realizó el muestreo de digesta ruminal con y sin marcadores (polietilenglicol para la fase líquida y óxido de cromo para la sólida) a las 0, 1.5, 3, 6, 12, 24 y 32 h, con el fin de determinar pH, concentración de N- NH_3 , de AGV's, volumen, flujo, tasa de dilución y tiempo de recambio de sólidos y líquidos. A los resultados se les aplicó el análisis de varianza conforme un diseño de doble cuadrado latino 4 x 4 con arreglo factorial 2 x 2, las medias fueron comparadas mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de ($P < 0.05$). La amoniatización del rastrojo de maíz actuó significativamente ($P < 0.05$) en la solubilización de paredes celulares y hemicelulosa, reflejándose en un incremento en la digestibilidad y tasa de degradación de materia seca, nitrógeno y paredes celulares y un decremento en el tiempo medio de degradación. El rastrojo de maíz amoniatizado incluido en las dietas experimentales, incrementó significativamente ($P < 0.05$) el contenido de proteína cruda, cenizas, la digestibilidad in vitro de materia seca, la velocidad de degradación de FDN, hemicelulosa y nitrógeno, el consumo de proteína cruda y proteína aparentemente digestible, la producción de metano, de NH_3 , de AGV's y acetato, de ATP, el rendimiento celular y la tasa de incorporación de N- NH_3 dentro de microorganismos. Por otro lado, la suplementación de urea provocó cambios significativos ($P < 0.05$) como el incremento en la digestibilidad de materia seca, el contenido de nitrógeno soluble, la producción y velocidad de formación de AGV's totales y acetato, la producción de NH_3 , la relación acetato/propionato, la producción de ATP y el rendimiento celular; además tendió a incrementar el volumen y el tiempo de recambio de sólidos y líquidos y disminuir la tasa de dilución de líquidos y sólidos. La adición de NH_3 + urea provocó interacción inhibitoria en casi todos los parámetros estudiados, a excepción de la producción de propionato y la tasa de incorporación de N- NH_3 dentro de microorganismos; además incrementó las pérdidas fecales de nitrógeno.

II. INTRODUCCION

En los últimos años, ha sido prioritaria la producción de alimentos básicos, como consecuencia, la producción de alimentos para los animales es cada vez menor. En la mayoría de los países, la d manda de proteínas de origen animal se ha incrementado, debido al crecimiento demográfico. Esta creciente demanda puede satisfacerse aumentando las importaciones tanto de productos animales como de alimentos de origen vegetal. Sin embargo, esta práctica puede conducir a un desequilibrio comercial y a una dependencia alimentaria cada vez más grande, que a la fecha empieza a notarse fuertemente.

Por consiguiente, muchos países entre los cuales se encuentra México, tienen la urgente necesidad de incrementar la producción interna de productos animales y para lograr lo anterior, será necesario modificar los sistemas de alimentación y de explotación pecuaria.

En nuestro país, desafortunadamente existen grandes áreas de pastoreo, principalmente en la zona Sureste, donde junto con la erosión provocada por la tala immoderada de árboles y el sobrepastoreo, provoca una disminución en la disponibilidad de tierras de cultivo para la agricultura y para la propia producción animal, pues la calidad y la cantidad de los pastizales se ve disminuida por el manejo inadecuado que se les da. Por esta razón y porque la producción de alimentos balanceados depende en mucho de las importaciones, es necesario un cambio en la alimentación animal, como es el sustituir los granos de las dietas alimenticias por esquilmos agrícolas y subproductos agroindustriales.

Estos subproductos que existen abundantemente en nuestro país, se pueden emplear para la alimentación animal e indudablemente serán de gran utilidad en los periodos de sequía debida a la escasez de forrajes verdes. A pesar de que estos subproductos

son deficientes en varios nutrimentos, principalmente los que aportan proteína y energía, tienen que suministrarse tratados, mezclados con otros subproductos que complementen las deficiencias de dichos nutrimentos.

El esquilmado de mayor producción y disponibilidad es el rastrojo de maíz (Zea mays), que alcanzó un volumen de producción de 24, 263,272 toneladas durante 1985 (124). No es de extrañarse que se haya producido este gran volumen de rastrojo, debido a que desde tiempos remotos hasta la actualidad, el maíz ha sido un alimento básico en la dieta del mexicano.

El maíz se caracteriza por la amplitud y especialidad de su adaptación ambiental y es el único que se cultiva en los tres grandes pisos ecológicos de nuestro país: en tierra caliente, en templada y en fría; desde el nivel del mar hasta las alturas de 3,000 m.s.n.m., desde el extremo sur hasta la frontera norte, el maíz se adapta a las distintas condiciones climatológicas de temperatura y humedad, y crece con menos de 500 mm de precipitación anual, fluctuando hasta por encima de los 1500 mm (46).

Por estas razones es importante dar un mejor empleo a los grandes volúmenes de residuos de la cosecha del maíz (8,40,155), pero como desde el punto de vista nutricional el rastrojo de maíz es sumamente pobre (cuadro I) principalmente en contenido energético y proteínico, es necesario emplear alguna técnica de tratamiento químico, como podría ser la amoniatización (28,71,72,85, 121,123,166).

CUADRO I

COMPOSICION QUIMICA DEL RASTROJO DE MAIZ (Base seca)

N U T R I M E N T O (%)	RASTROJO DE MAIZ
MATERIA SECA	90.21
PROTEINA CRUDA	3.76
EXTRACTO ETereo	1.08
CENIZAS	7.89
PAREDES CELULARES	70.80
CONTENIDO CELULAR	29.40
FIBRA DETERGENTE ACIDO	43.48
HEMICELULOSA	27.18
CELULOSA	33.40
LIGNINA	8.80
SILICE	3.40

III. REVISION DE LITERATURA

III.1. LIGNOCELULOSA Y AMONIATIZACION

Como se mencionó anteriormente, los esquilmos agrícolas tie-
nen como principal característica nutricional la presencia de un
alto contenido de lignocelulosa, que es un complejo compuesto por
celulosa, hemicelulosa y lignina con una asociación física y quí-
mica sumamente estrecha. En base a estas características, se dice
que las pajas y rastrojos están constituidos por tres fracciones
(76,116) que pueden ser o no digeridas por el rumiante:

- a) Una fracción de hidratos de carbono que es fácil-
mente fermentable por los microorganismos ruminales.
- b) Una fracción de celulosa y hemicelulosa potencial-
mente digerible, pero por la presencia de la lig-
nina es parcialmente aprovechada.
- c) Una fracción de lignina y sílice esencialmente
indigerible por la microflora ruminal.

Este complejo lignocelulósico constituye la pared celular de
los vegetales, la cual está formada por dos paredes: la primaria y
la secundaria. La pared primaria se compone de un 90% de polisacá-
ridos (microfibrillas de celulosa, pectina y hemicelulosa) y 10%
de proteínas. La mayoría de estos polisacáridos están formados
por cadenas de monosacáridos como las pentosas y hexosas, unidos
unos con otros por medio de enlaces covalentes llamados glucosí-
dicos (2,88). La pared secundaria se sitúa envolviendo la pared
primaria y se genera después que la planta alcanza su madurez,
incrementándose la cantidad de celulosa, hemicelulosa y principal-
mente la lignina (116).

La celulosa es el polisacárido más abundante de los compo-
nentes de la pared celular (20-50% en base a materia seca) (1,147).
La estructura de la celulosa se debe a la unión de varias unidades
de glucosa por enlaces β -1,4. Hay evidencias de que existen en-
tre 1400 y 10,000 residuos de glucosa en la molécula (3), pero el
número de unidades de azúcar por cada cadena y el peso molecular

de la celulosa varía con la especie y madurez de la planta. Algunas determinaciones de peso moleculares dan valores desde 200,000 a más de 2 millones (3). En la fibra celulósica hay alrededor de 40 cadenas de glucosa, llamada glucanos. Las cadenas de glucanos son fuertes y se alinean unas sobre otras para formar láminas, las cuales son sostenidas por puentes de hidrógeno entre átomos de oxígeno e hidrógeno (1,2). Estos puentes de hidrógeno le proporcionan a la cadena una gran fuerza y resistencia a la degradación química (2,23).

En el modelo de las paredes celulares propuesto por Albersheim (2), se asume que las fibras de celulosa están unidas unas con otras por medio de los polisacáridos xilosa, arabinosa y ramnosa. Muchas moléculas de xiloglucanos se adhieren a la superficie de la fibra, uniéndose a una cadena simple de arabinogalacturano. Cada cadena de ramnogalacturano puede recibir algunas moléculas de arabinogalactanos uniendo diferentes fibras de celulosa. Como resultado de estas extensas uniones, la fibra es inmovilizada en una matriz rígida.

La disponibilidad de la celulosa para los microorganismos ruminales se considera entre el 25 y 90%. Los factores que afectan su digestibilidad están íntimamente relacionados con sus propiedades intrínsecas, tales como la microestructura, el contenido de humedad, la asociación con otros compuestos como la lignina, hemicelulosa y el sílice, la cantidad digerida y así como la ingesta de otros elementos como el nitrógeno proteínico, los minerales, etc. (24,87,116,117,127).

La hemicelulosa es un polisacárido amorfo que incluye cadenas cortas de glucanos, polímeros de xilosa, arabinosa, ramnosa, galactosa y ácidos urónicos como el ácido glucurónico y el galacturónico (38,117). La proporción de estos polisacáridos varía considerablemente entre especies vegetales y aunque no es muy claro, este puede ser el factor determinante en su utilización y degradación (38). Su molécula consta de 150 a 200 unidades de azúcares.

La hemicelulosa existe en una estrecha asociación con la lignina y la celulosa y son generalmente separadas de la celulosa por extracción con álcalis o ácidos diluidos. La hemicelulosa varía en contenido de un tipo de material vegetal a otro con un rango de 30 a 40% (38). La hemicelulosa puede definirse como la parte de la pared celular soluble en álcali frío diluido.

Los botánicos y los bioquímicos ven a la lignina como un polímero de fenilpropano carbohidratado cuya función es dar soporte estructural y resistencia a la pared celular de las plantas (78). Desde el punto de vista nutricional, la presencia de la lignina es desfavorable, ya que es una fracción indigerible por los rumiantes y puede también limitar la disponibilidad de los hidratos de carbono fácilmente fermentables (1,78,79). En relación a esto se han propuesto varios mecanismos que sugieren la manera en que la lignina afecta la digestibilidad de la pared celular; éstos incluyen incrustación, efectos sobre el tracto digestivo microbiano por acción antiséptica de los grupos fenólicos, y la formación de complejos lignina-polisacáridos (78,79).

Las propiedades físicas de la lignina pueden ser alteradas por ácidos fuertes, no obstante, contiene una estructura condensada con enlaces C-C y algunos enlaces que son resistentes a la acción hidrolítica de ácidos y álcalis, por esta razón, la lignina es el material perfecto para protección de las plantas (148), pero al igual que todos los polifenoles es muy lábil a la oxidación. Su estructura completa se desconoce, pero se sabe que es una mezcla de polímeros como el 3,5-dimetoxi-4-hidroxifenilpropano, 3-metoxi-4-hidroxifenilpropano y 4-hidroxifenilpropano (127), ácido ferúlico y ácido p-cumárico, los cuales varían en proporción entre las plantas (148).

La lignina de las gramíneas se considera más soluble en álcali (78) que la contenida en las leguminosas. La solubilidad de

la lignina de gramíneas se puede relacionar por un alto contenido de grupos éster y por un bajo contenido de grupos metoxilos. La delignificación alcalina en gramíneas está asociada con un incremento en la digestibilidad de la pared celular insoluble, mientras que en las leguminosas, las paredes celulares son relativamente indigeribles y cualquier incremento en su digestibilidad es debido a la solubilidad de los compuestos carbohidratados de la matriz de la pared celular.

La lignina de algunas gramíneas y leguminosas contiene nitrógeno en una proporción de 1.5 a 2%. Este nitrógeno se encuentra ligado a la lignina de forrajes frescos y es esencialmente indigerible. Se ha mostrado la presencia de nitrógeno heterocíclico en ligninas de leguminosas, considerándose como parte de su estructura. Los compuestos heterocíclicos pueden ser generados por la reacción de Maillard. La presencia de aminoácidos indispensables en la lignina puede indicar una asociación de los péptidos de hidroxiprolina de las proteínas de las paredes celulares con la lignina, o alternativamente, una condensación de la lignina con la proteína en la posición bencil.

La habilidad de las enzimas de los microorganismos anaerobios o de las enzimas que intervienen en el metabolismo animal para degradar grupos fenólicos es muy limitada. (77,148).

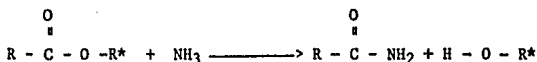
Entre la lignina y los hidratos de carbono se han encontrado tres tipos de enlaces:

- a) Enlaces susceptibles a la reducción con boro.
- b) Enlaces susceptibles a la acción de álcalis.
- c) Enlaces resistentes a la acción de álcalis.

El tratamiento con amoníaco puede actuar rompiendo los dos primeros tipos de enlaces, produciendo en proporción, un incremento en la lignina (60).

El mecanismo de acción del amoníaco sobre el complejo lignina-celulosa-hemicelulosa no ha sido completamente dilucidado (56). No obstante, se sugiere que el amoníaco saponifica los enlaces éster de unión entre la lignina y la hemicelulosa de las paredes celulares, provocando hinchazón y aumento en la flexibilidad de la fibra, así como el incremento en el área de superficie de la celulosa y hemicelulosa con las enzimas celulolíticas de los microorganismos ruminales (29,85,122). Este fenómeno es provocado por la solubilidad de la hemicelulosa y la hidrólisis de ésteres del ácido urónico y acético (54,167).

La reacción de amonólisis es la siguiente (122):



Donde:

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

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

Jackson (71) sugirió que había una parcial disolución de la hemicelulosa, sílice y lignina, pero no de celulosa cuando se amoniatizaban las pajas.

Harbers et al (56) encontraron por medio de microscopía electrónica, que el hidróxido de amonio rompe la capa cuticular interna (ceras y grasas) de los tallos de trigo y parte de parénquima. La separación del parénquima indica solubilización de pectinas, hemicelulosa y algo de celulosa. El tejido vascular aparece distorsionado y parte del floema se pierde (pectinas, celulosa, hemicelulosa y lignina). El hidróxido de amonio no tiene efecto sobre la localización de sílice en la cutícula.

En general, la amoniatización provoca respuestas muy variadas y contradictorias entre las diferentes investigaciones, por lo que en el cuadro II se presenta un resumen bibliográfico sobre el efecto de la amoniatización de pajas sobre el contenido lignocelulósico.

III.2. UTILIZACION DEL COMPLEJO LIGNOCELULOSICO POR LOS MICROORGANISMOS RUMINALES

La accesibilidad del material celulósico a los agentes biodegradables, está directamente relacionada a su estructura física. La superficie de la celulosa expuesta a la acción enzimática de los microorganismos está dada por el tamaño, forma y área de superficie de los capilares microscópicos dentro de la matriz celulósica, en relación al tamaño, forma y difusibilidad de los agentes biodegradables. Así se tiene que los capilares de las celulosas microscópicamente visibles con diámetro entre 2,000 y 100,000 Å, son lo suficientemente grandes para que las enzimas puedan entrar fácilmente por difusión. Por otra parte, en los capilares pequeños, el contacto físico entre la enzima y la pared celular de éstos, puede disminuir la tasa de hidrólisis, debido a que las enzimas no pueden difundirse fácilmente por el pequeño diámetro de estos capilares. El diámetro de estos microtúbulos aumenta a su máxima dimensión cuando están saturados de agua, facilitándose así la difusión de las enzimas celulolíticas (127).

La estimación de las dimensiones de las enzimas celulolíticas fue hecha por Crowlin y Brown (31), quienes encontraron una variación considerable en sus dimensiones, ya que el diámetro de las enzimas esféricas oscila entre 25 y 30 Å, en tanto que en las enzimas elipsoidales varía de 15 x 80 Å a 40 x 250 Å (127).

La degradación de la celulosa es un proceso de rompimiento del polímero, en pequeñas moléculas de diferente peso molecular como oligosacáridos, di o trisacáridos como la celobiosa y la celotriosa, el monómero glucosa, la producción de pequeños alcoholes, ácidos grasos volátiles, cetonas, metano, bióxido de carbono y agua (163).

CUÁDR O II

EFFECTO DE LA AMONIATIZACION DE PAJAS SOBRE SU COMPOSICION LIGNOCELULOSICA

P A R A M E T R O	RESPUESTA	INTERVALO (%)	REFERENCIAS
FIBRA DETERGENTE NEUTRO, %	DECREMENTO SIN CAMBIO	3.2 - 17.2	4,95,101,105,106,108,139,150. 167.
FIBRA DETERGENTE ACIDO, %	DECREMENTO INCREMENTO SIN CAMBIO	16.2 2.9 - 7.0	6. 95,105,106. 60,101,108,109,166,167.
HEMICELULOSA, %	DECREMENTO SIN CAMBIO	14.7 - 44.6	95,104,105,106,108,109,139,150. 91,101,166,167.
CELULOSA, %	DECREMENTO INCREMENTO SIN CAMBIO	14.0 3.1 - 13.2	108,109,139 6. 91,150.
LIGNINA, %	DECREMENTO SIN CAMBIO	12.8 - 56.9	6,54,91,139. 60,108,109,150.
ENERGIA BRUTA	INCREMENTO DECREMENTO	5.4 - 16.3 8.0	60,76,101 6.

Las enzimas de acción celuloítica se clasifican en las del tipo "exo" (1) y las del tipo "endo", las primeras separan unidades de azúcar empezando por el extremo reductor de la cadena β -1,4 glucano, en tanto que las del tipo endo, actúan indistintamente sobre los enlaces glucosídicos β -1,4 de la cadena y parece ser que los enlaces terminales son menos sensibles a la hidrólisis que los enlaces del interior (23).

La cantidad de celulosa adsorbida depende en gran cantidad de la disponibilidad del área de superficie y de la concentración de celulosa (29,85,122).

Asimismo, el grado de cristalinidad de la celulosa influye en su degradación, concluyéndose que las enzimas celuloíticas atacan preferentemente a la porción amorfa de la celulosa, siendo menos degradable la porción cristalina (12,98).

Baumgard (17) propuso un mecanismo de digestión de celulosa, donde un factor afinidad y un factor hidrolítico son necesarios para la formación de un complejo de celulosa, el cual puede hidrolizar celulosa nativa a celobiosa. Sin embargo, él propone que la conversión enzimática de la celulosa nativa en su forma reactiva, puede ser hecha por la enzima C_1 . Esta enzima tiene una gran acción sinérgica con la enzima hidrolítica, pero que su acción aún no se conoce específicamente.

La estructura cristalina de las fibrillas de la celulosa es estable por la presencia de puentes de hidrógeno entre las cadenas β -1,4 glucano. Estos puentes se rompen por el componente proteínico C_1 (87) de los sistemas celuloíticos. Al disminuir los puentes de hidrógeno que dan estabilidad a la cadena, se crean puntos de ataque para la acción hidrolítica de las β -1,4 glucanasas (23).

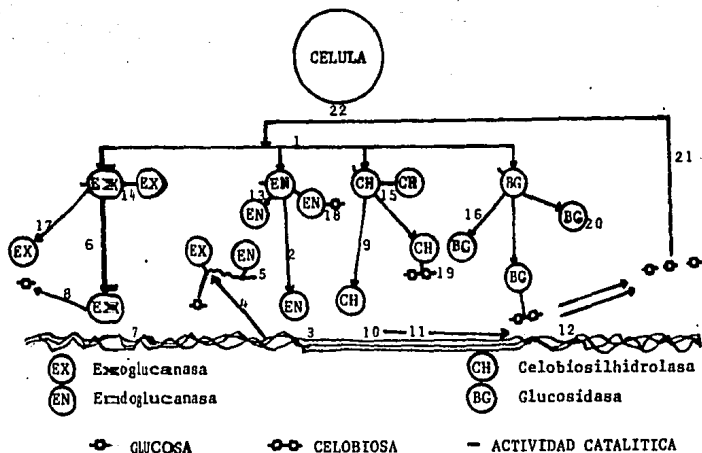
Tomando en cuenta la multiplicidad de las enzimas celulólficas del sistema, la complejidad de la regulación de las mismas y la heterogeneidad de la naturaleza de los materiales celulólficos, es difícil establecer un modelo de la biodegradación de la celulosa, no obstante en la Fig. 1 se sugiere un modelo que incluye la mayoría de los pasos posibles de la biodegradación, los cuales involucran transferencia de masa, reacciones de superficie, regulación enzimática e ingeniería genética (127).

Los principales microorganismos de acción primordialmente celulólfica son Bacteroides succinógenes, Ruminococcus flavefaciens, Ruminococcus albus, Clostridium lachheadii, Acetogenic rod, Celulomonas fini, Cillibacterium cellulosolvens y Butirivibrio fibrisolvens (12,63,68).

Cheng et al (37) observaron por medio de micrograffas electrónicas que la pared celular de las plantas son rápidamente colonizadas en el fluido ruminal, siendo el floema, epidermis y el parénquima los más fuertemente colonizados y rápidamente digeridos; por el contrario, el esclerénquima y el tejido vascular lignificados son poco colonizados y poco digeridos.

En general, los microorganismos celulólficos no utilizan como fuente de energía y carbono a los monosacáridos liberados durante la hidrólisis de holocelulosa. Las bacterias celulólficas requieren para su desarrollo y multiplicación de varias vitaminas del complejo B, ácidos grasos de cadena ramificada, amonía y algunos minerales (24). Frecuentemente, dependen de otros microorganismos ruminales para suplementar estos nutrimentos (12).

La celulosa es completamente sintetizada dentro de las células de las bacterias celulólficas. Es importante considerar que las especies bacterianas no sintetizan todas las enzimas necesarias para hidrolizar a la totalidad de los componentes del alimento.



1. Secreción de celulasa por los microorganismos.
2. Difusión de endoglucanasa sobre la superficie de la región amorfa.
3. Adsorción de endoglucanasa al sitio activo para formar el complejo celulasa-endoglucanasa.
4. Liberación de cadenas cortas de oligosacáridos del complejo celulosa-endoglucanasa.
5. Reacción repetitiva de cadenas cortas de oligosacáridos con endoglucanasa para dar cadenas más cortas. La reacción de estas cadenas cortas de oligosacáridos con la exoglucanasa libera glucosa de terminaciones no reductoras de la cadena de celulosa.
6. Difusión de exoglucanasa sobre la superficie de la región amorfa.
7. Adsorción de exoglucanasa al sitio activo para formar el complejo.
8. Liberación de glucosa de la terminación no reductora del complejo celulosa-exoglucanasa.
9. Difusión de la celobiosilhidrolasa sobre la superficie de la región cristalina.
10. Adsorción de celobiosilhidrolasa al sitio activo para formar el complejo.
11. Liberación de celobiosa de la terminación no reductora del complejo celulosa-celobiosilhidrolasa.
12. Reacción de celobiosa con β -glucosidasa para formar glucosa.
- 13, 14, 15, 16. Reactivación de los compuestos de las celulases.
- 17, 18, 19, 20. Inhibición de los compuestos de las celulases.
21. Ingestión de productos de degradación por las células microbianas.
22. Regulación de la producción de celulasa por inducción o represión.

Figura 1. MECANISMO DE BIODEGRADACION DE LA CELULOSA (127)

Por esta razón, cada una de las especies actuando por separado son incapaces de digerir todas las fracciones de fibra, sin embargo, lo pueden hacer fácilmente si actúan conjuntamente unas con otras.

Los Ruminococcus producen celulasas extracelulares (12), las cuales son inhibidas en su actividad, pero no en su producción, por la presencia de altas concentraciones de hidratos de carbono fácilmente fermentables (68,165). Esta enzima es más activa a pH entre 5.8 y 6.3 (68). Las celulasas de R. albus son activas en la hidrólisis de la celulosa amorfa o desnaturalizada, pero son relativamente ineficientes contra la celulosa cristalina (12).

La celulasa de B. succinógenes es más activa sobre la celulosa cristalina que las enzimas celulolíticas de Ruminococcus (12). Esto es de una importancia muy marcada en animales alimentados con dietas altas en fibra. Se ha demostrado que esta enzima se encuentra ligada a la membrana externa del microorganismo, lo cual sugiere que debe estar en contacto físico con el sustrato para hidrolizarlo (164). Al igual que B. succinógenes, se ha encontrado que B. fibrisolvens prolifera en gran cantidad en animales alimentados con dietas altas en forrajes (84).

En estudios en hongos celulolíticos se han identificado a Trichoderma reesii y Sporotrichum pulverulentum, los cuales presentan tres tipos de enzimas: las endo-1,4- β -glucanasas, exo-1,4- β -glucanasas y 1,4- β -glucosidasas. Las endo-1,4- β -glucanasas atacan enlaces glucosídicos internos en cadenas de celulosa y da como resultado celulo-dextrinas solubles en agua. Las exo-1,4- β -glucanasas atacan cadenas de celulosa en la parte final no reductora de la molécula, produciendo celobiosa o unidades de glucosa. Por último, las 1,4- β -glucosidasas hidrolizan la celobiosa y las celulo-dextrinas solubles en agua, para obtener glucosa. Para degradar la celulosa cristalina se requiere de la acción conjunta de la exo y endo-1,4- β -glucanasa (110).

La participación de los protozoarios en la degradación de la celulosa no es muy clara, pero varios géneros incluyendo Diplodinium y Epidinium, ingieren partículas de celulosa y parcialmente las digieren (12,110).

Deofosse-Debusscher et al (39), observaron por medio de micrograffas electrónicas que las fibras vegetales son ingeridas por los ciliados mediante el proceso de endocitosis. Estas fibras son encerradas en una vacuola cubierta por una membrana. Las paredes celulares de la fibra son degradadas progresivamente y reducidas en pequeñas piezas. Las celulasas se extienden entre las capas de las fibras, transformando totalmente a las paredes celulares, a excepción de la lignina que permanece intacta y concluyen que la degradación de la celulosa por los ciliados, probablemente resulta de un mutualismo entre ellos y las bacterias.

Por otro lado, Jouany y Senaud (77), afirman que la presencia de protozoarios ciliados en el rumen incrementan la digestibilidad de la lignocelulosa (entre 3 y 10%) y de la materia orgánica. P. multivesiculatum es el ciliado más importante en la digestión de la celulosa. Los ciliados participan en la degradación, principalmente cuando la dieta tiene un bajo contenido de celulosa (15% en base a materia seca).

En relación a la digestión de la hemicelulosa, los xilanos son atacados por especies de B. succinógenes, B. ruminícola, B. amilógenes, B. fibrisolvens, R. flavefaciens, Eubacterium ruminantium y R. albus (1,37,38,63). Una enzima capaz de utilizar glucuronoides activa a pH de 6.1 fue aislada del rumen, la cual es específica para ácidos 8-D-glucosilpiranurónicos. Por otra parte hay que recordar que las especies bacterianas aptas para atacar la celulosa, también atacan en grado similar a la hemicelulosa y las enzimas involucradas pueden ser las mismas para ambos polisacáridos. La hemicelulosa es digerida en la misma extensión que la celulosa (38,68).

El proceso de hidrólisis de la hemicelulosa se inicia por la liberación extracelular del disacárido xilobiosa, el cual es hidrolizado por la enzima intracelular xilosidasa para formar xilobiosa (12). Esta actividad representa una hidrólisis específica de las uniones β -1,4-xilosídicas por la hemicelulasa (17).

Debido a que varios microorganismos celulolíticos (siendo el más notable B. succinógenes) no fermentan las pentosas liberadas por ellos mismos, estos productos de la hidrólisis son utilizados eficientemente por las bacterias no celulolíticas para producir AGV's, pequeños alcoholes, metano, bióxido de carbono y agua (38).

En la degradación de hemicelulosa, los protozoarios del rumen participan activamente con la producción de hemicelulasas y/o xilanasas. Entre las especies más importantes se encuentra Epidinium ecaudatum, Eremoplaston bovis y mezcla de especies de Eubacterium (38).

III.2.1. FACTORES LIMITANTES EN LA DIGESTIBILIDAD DE LA LIGNOCELULOSA

Entre los factores que limitan la digestibilidad de la lignocelulosa, se encuentra la disponibilidad de nitrógeno (35, 74), minerales e hidratos de carbono fácilmente fermentables. La disponibilidad de nitrógeno para el desdoblamiento de la lignocelulosa en el rumen depende del tipo de forraje y de factores fisiológicos (24,52). En dietas con rastrojos, la cantidad de celulosa y hemicelulosa digerida por día, declina progresivamente con el incremento en la inclusión de granos (92). La necesidad mínima de nitrógeno para forrajes toscos administrados como único alimento, parece ser que oscila entre 0.6 y 0.8%. Pequeñas cantidades de urea o nitrógeno no proteínico adicionados a tales forrajes, o bien, la amoniatización de esquilmos agrícolas (Cuadro III), dan origen a un desdoblamiento acelerado de la lignocelulosa, a un incremento de ingestión de materia seca y a un aumento en el coeficiente de digestión de la fibra bruta (162).

CUADRO III

EPECTO DE LA AMONIATIZACION DE LAS PAJAS SOBRE LA DEGRADACION
DE LA LIGNOCELULOSA

DIGESTIBILIDAD	RESPUESTA	INTERVALO (%)	REFERENCIAS
MATERIA SECA	INCREMENTO	5 - 43	4,54,60,70,83,85,91,95,101,105,106, 109,122,135,136,139,150,152,154,162, 167.
FIBRA DETERGENTE NEUTRO	INCREMENTO	12.3 - 20.2	91,101,102,109.
FIBRA DETERGENTE ACIDO	INCREMENTO	12.0 - 44.8	6,60,101,109,162,167
HEMICELULOSA	INCREMENTO	15.6 - 60.0	25,95,101,104,105,106,109,139,149, 150
CELULOSA	INCREMENTO SIN CAMBIO	39.2 - 63.4	6,91,109. 76
ENERGIA BRUTA	INCREMENTO	5.0 - 79.4	6,60,76,135,153
ENERGIA DIGESTIBLE	INCREMENTO	11.7 - 39.8	6,95.

La cantidad adecuada de nitrógeno para la digestión de la celulosa de forrajes con 50% de energía digestible es de 1%; para forrajes con porcentajes de energía digestible mayores, la necesidad de nitrógeno puede aumentar hasta un 1.5%. Los complementos de almidón o de azúcar pueden elevarla a 2% (116,117). Herrera-Saldaña et al (60) aseveran que existe una correlación entre el nivel y la digestibilidad de nitrógeno y la digestibilidad de energía bruta en la dieta.

En cuanto al efecto de los minerales sobre la utilización de lignocelulosa, la mayoría de la información ha sido generada a través de estudios in vitro. Dentro de estos estudios se ha encontrado que el molibdeno, azufre, magnesio, calcio, hierro y fósforo (24) incrementan la digestibilidad de la celulosa, mientras que el boro, cobre, cobalto y zinc la deprimen (117).

En relación al efecto de los hidratos de carbono fácilmente fermentables, se sabe que pequeñas cantidades de éstos, estimulan la fermentación de los complejos lignocelulósicos, sugiriéndose una inclusión en la ración de 5-10%. Sin embargo, cuando se suministran grandes cantidades de estos azúcares, se presenta una disminución en la utilización de la lignocelulosa (26,52,87,92,133). Esto es causado por la competencia entre microorganismos que digieren celulosa y los que atacan los azúcares fácilmente fermentables (17,116).

El término tasa de digestión se refiere a la cantidad de alimento que se puede digerir por unidad de tiempo y es esencialmente una función de la dieta. La composición de la dieta, su calidad, deficiencias, excesos y disponibilidad de nutrientes, determinan la velocidad de la digestión (148). Generalmente los compuestos fácilmente fermentables son rápidamente digeridos, mientras que los menos solubles, son atacados más lentamente.

Las tasas de digestión pueden ser cuantificadas por cinéticas de primer orden (98,99,148), donde la digestibilidad es proporcional a la concentración de sustrato (98).

$$dS/dt = -K_d S$$

Donde:

dS/dt = Velocidad a la que disminuye la concentración de sustrato (S).

K_d = Constante de velocidad de la desaparición de sustrato.

Las tasas de digestión han sido discutidas en términos de tiempos lag. Se sugieren tiempos cortos para hidratos de carbono fácilmente fermentables, tiempos intermedios para pectinas y tiempos largos para celulosas (26).

La fase lag de digestión es definida como el período de fermentación inicial, cuando la digestión es constante o se presentan tasas muy reducidas. El efecto lag es mostrado como una característica no lineal (98,99). La fase lag es debida a la adherencia o asociación de los microorganismos con el sustrato antes de la digestión enzimática (99).

Los factores que afectan la tasa de digestión, se dividen en dos categorías (98,99):

- a) Los inherentes a la pared celular
- b) Los efectos de la población microbiana o de sus sistemas enzimáticos.

III.2.2. METABOLISMO DE LOS PRODUCTOS DE DEGRADACION DE LA LIGNOCELULOSA

La fermentación de glúcidos es la principal fuente de energía para la producción de ATP, el cual es esencial para el mantenimiento y crecimiento de los microorganismos ruminales (13).

La ruta primaria en la fermentación de las hexosas en los microorganismos ruminales es la ruta de Embden-Meyerhof (EM) (88). Los productos de degradación de celulosa y almidón pasan directamente a glucosa o glucosa 6 ó 1-fosfato, mientras que los productos de degradación de pectinas y hemicelulosa pasan al ciclo de las pentosas para formar fructosa-6-fosfato o a gliceraldehído-3-fosfato, terminando la ruta Embden-Meyerhof hasta la formación de piruvato (88). La vía completa de EM produce 2 ATP netos, en tanto que la producción neta de ATP por la fermentación de una mol de pentosa es de 1.67 moles; esta ruta comprende la conversión de tres pentosas fosfato a dos hexosas fosfato y una triosa fosfato vía las reacciones de transcetolasas y transaldolasas (13).

El piruvato es el compuesto del cual parte la producción de acetato, propionato, butirato, formato, metano y bióxido de carbono, por lo cual su papel dentro del metabolismo de los hidratos de carbono es imprescindible (Fig. 2). Tanto la formación de piruvato como de NADH_2 y ATP, varía enormemente dependiendo de los microorganismos involucrados y de las condiciones de incubación. La necesidad primordial dentro y entre los microorganismos, es la de mantener el balance de hidrógeno en el sistema, es decir, si la metanogénesis es activa y como resultado, la presión parcial de hidrógeno en el medio exterior es baja, los microorganismos que poseen una hidrogenasa pueden liberar el hidrógeno del NADH_2 como H_2 . Si el H_2 en el medio exterior es alto, la termodinámica de la reacción $\text{NADH}_2 \text{ -----} \rightarrow \text{H}_2 + \text{NAD}$ no es favorable y el organismo es forzado a reducir piruvato a lactato o propionato para mantener el balance de H_2 (13,163).

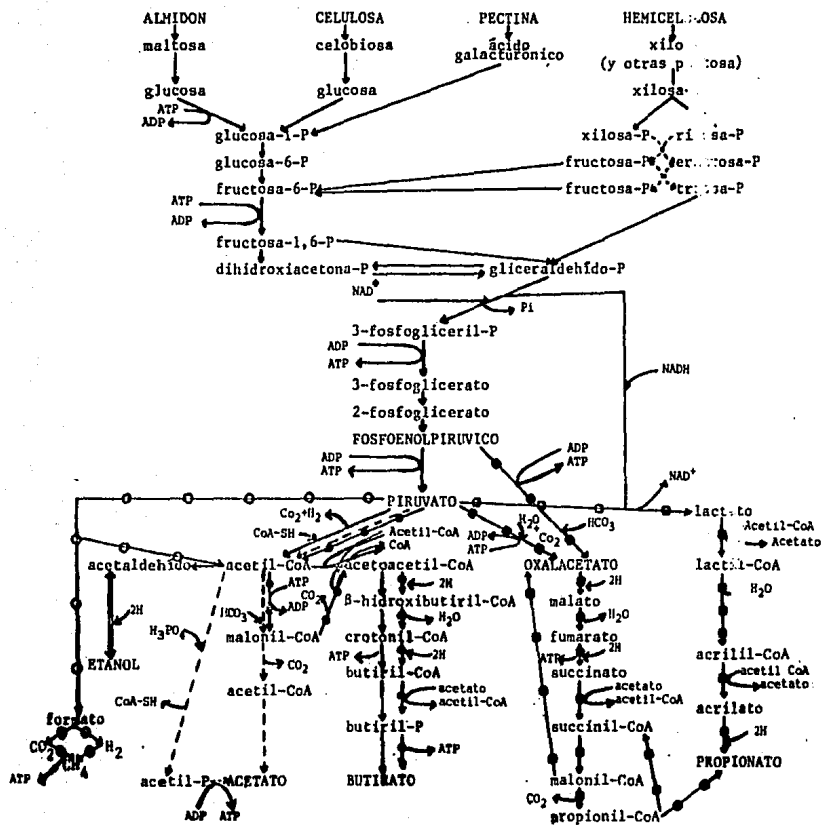


Figura 2. RUTAS PARA LA DEGRADACION DE HIDRATOS DE CARBONO EN EL RUMEN (Buttery, 1981; Hungate, 1966; Leng, 1970; Baldwin, 1983; Thaver, 1977 y Tamminga, 1978).

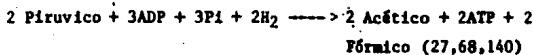
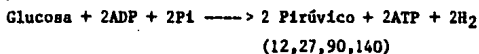
- Ruta del acrilato
- Ruta reversa β -oxidación
- - - Sistema enzimático
- Ruta del malonil
- Sistema de oxalacetato
- Sistema piruvato-formato

Entre las reacciones del piruvato se encuentra la producción de acetato, de la cual se han observado dos mecanismos: el más común es el sistema piruvato-formato, el cual produce formato y acetyl-CoA como producto inmediato. El formato liberado es convertido a $\text{CO}_2 + \text{H}_2$ posteriormente a CH_4 con liberación de 1 ATP (12, 13). El otro sistema es el enzimático, donde el piruvato por medio de la acción de la piruvato-ferredoxina oxidoreductasa se convierte en ferredoxina reducida, CO_2 y Acetyl-CoA (90). El acetyl-CoA es convertido a acetato más ATP por la fosfotransacetylasa más acetocinasa. La producción de ATP en la conversión de piruvato a acetato es de 1 ATP por mol (137,138,140).

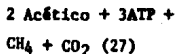
Harrison et al (58,59) sugirieron que la producción de acetato está asociada con la formación de 4.25 moles de ATP por mol de hexosa fermentada (19,27).

El balance estequiométrico de estas reacciones a partir de glucosa es (12,140):

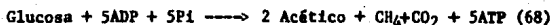
a) Ruta piruvato-formato:



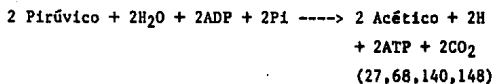
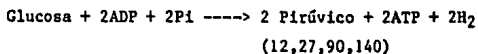
o



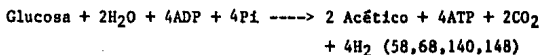
Balance neto:



b) Sistema enzimático:



Balance neto:



Las bacterias metanogénicas (Methanobacterium ruminantium), son un grupo de microorganismos que reducen el CO_2 a CH_4 , con una termodinámica altamente favorable ($\Delta G^\circ = -32.4 \text{ Kcal/reacción}$) (13), para la formación de ATP. Los mecanismos de formación de ATP aún no son del todo conocidos.

La inhibición en la producción de metano, provoca incrementos en la formación de propionato, pero también hay una pérdida considerable en la cantidad de energía como gas H_2 (13,163).

El propionato es producido por la ruta del oxalacetato (o randomización) y por la ruta del acrilato (ruta de la reducción directa) (18). Para catalizar la carboxilación del piruvato pueden actuar 3 enzimas (13):

- a) La fosfoenolpiruvato carboxilasa, la cual convierte al fosfoenolpiruvato más ADP o GDP a oxalacetato más ATP o GTP (163).
- b) La piruvato carboxilasa que transforma el piruvato más CO_2 y ATP en oxalacetato más ADP (137,138).

- c) La metil malonil-CoA carboxitransferasa, la cual transfiere una unidad de carbono de la metil malonil-CoA al piruvato, durante la conversión de succinato a propionato.

El primer y tercer mecanismos enzimáticos, los microorganismos los prefieren porque completan la carboxilación sin costo energético para la célula, mientras que la reacción de piruvato carboxilasa emplea un ATP por mol.

En la fermentación de la celulosa vía la reacción de carboxil transferasa se observa muy poco carbono reciclado, lo cual se debe a que varios microorganismos celulolíticos producen succinato como producto final (12,13).

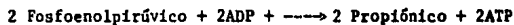
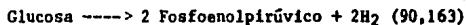
El ácido succínico es un importante precursor de una buena porción del propionato formado en el rumen. El succinato es descarboxilado a propionato y CO_2 (163). Las bacterias que producen mayores cantidades de succinato a partir de la celulosa son: B. ruminicola, B. succinogenes y B. flavefaciens. Entre los microorganismos descarboxilantes está Selenomonas ruminantium. Estos se encuentran en altas concentraciones en el rumen y producen propionato, acetato y CO_2 a partir de los glucósidos. En tanto que microorganismos tales como Propionibacterium y Veillonella usan la ruta del succinato para producir propionato y son capaces de descarboxilar el succinato a propionato y CO_2 . Es importante señalar que para que se lleve a cabo la descarboxilación del succinato es necesaria la presencia de biotina (163).

Cuando la celulosa es la principal fuente de cadenas hidrocarbonadas de la dieta, la ruta predominante para la producción de propionato en el rumen, es la ruta del succinato o randomización. No obstante, si cuando el almidón es el glúcido predominante, la mayor parte del propionato se produce por la ruta del acrilato o ruta de la reducción directa (90,148). Esta ruta alternativa ha sido identificada en bacterias tales como: M. elsdenii y B. rumi-nícola, la cual involucra la formación de lactato, conversión de acrilil-CoA a propionil-CoA vía una crotonil -CoA reductasa unida a $NADH_2$ (13).

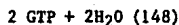
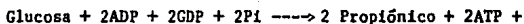
Debido a que el ácido propiónico ha sido reconocido como el único ácido graso volátil gluconeogénico, su producción es de vital importancia, ya que éste es utilizado por el animal como fuente de energía y como sustrato para la síntesis de glucosa. Bajo condiciones aeróbicas, el rendimiento energético por mol de ácido propiónico es de 18 moles de ATP. La producción de propionato está asociada a la producción de 4 moles de ATP por mol de hexona fermentada (12,13,27,58,163).

El balance estequiométrico de las reacciones involucradas en la producción de propionato a partir de la fermentación de la glucosa es (140):

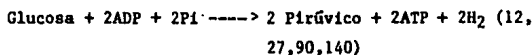
a) Sistema del oxalacetato a partir de fosfoenolpirúvico (163):



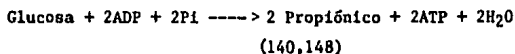
Balance neto:



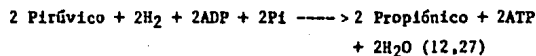
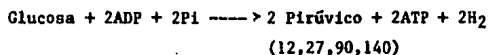
- b) Sistema del oxalacetato a partir de piruvato (ruta poco utilizada por los microorganismos).



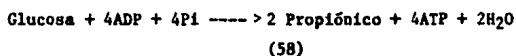
Balance neto:



- c) Ruta del acrilato o ruta de la reducción directa.



Balance neto:

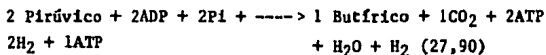
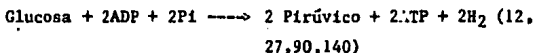


El butirato puede producirse por medio de 2 vías; ya sea por la vía de la condensación de 2 moléculas de acetyl-CoA (o reversa de la β -oxidación), o bien por la condensación de una molécula de acetyl-CoA y una de malonil-CoA (90).

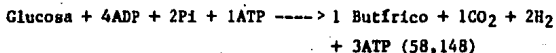
En la ruta del malonato cuando se parte de acetato, se requieren de 2 moles de ATP para formar un mol de butirato, mientras que en la reversa de la β -oxidación, solamente se requiere un mol de ATP (90). La producción de butirato está asociada a la producción de 3 moles de ATP por mol de hexosa fermentada (19,27,58,90,140,148).

El balance estequiométrico de las reacciones involucradas en la producción de ácido butírico a partir de la fermentación de glucosa es (140):

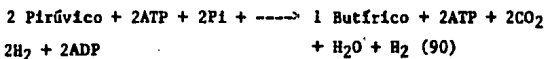
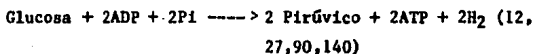
a) Ruta de la reversa de la β -oxidación:



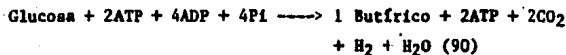
Balance neto:



b) Ruta del malonil:



Balance neto:



Después de revisar los mecanismos de producción de AGV's, podremos comprender el efecto de la amoniatización de pajas sobre su producción, que a la fecha no se ha expuesto claramente, ya que existen grandes controversias al respecto, donde algunos autores reportan respuestas diferentes a cada uno de los parámetros mencionados en el Cuadro IV.

CUADRO IV

EFFECTO DE LA AMONIATIZACION DE PAJAS SOBRE LA PRODUCCION
DE AGV's RUMINALES

P A R A M E T R O	RESPUESTA	INTERVALO (%)	REFERENCIAS
AGV's TOTALES	INCREMENTO	10.7 - 28.4	101
	DECREMENTO	8.0 - 28.2	108,109,130.
	SIN CAMBIO		7,60,95,102.
ACETATO	INCREMENTO	24.8 - 27.9	101,108,109.
	DECREMENTO	11.8 - 16.13	7,95.
	SIN CAMBIO		60,130.
PROPIONATO	INCREMENTO	24.8 - 28.0	7,95,101.
	DECREMENTO	10.4	108,109,130.
	SIN CAMBIO		60.
BUTIRATO	INCREMENTO	178.6	7.
	DECREMENTO	6.1 - 8.3	95,108,109.
	SIN CAMBIO		60.

En relación a la eficiencia de conversión de la energía de los hidratos de carbono a AGV's, se han realizado cálculos sobre el rango teórico de los rendimientos molares relativos de los AGV's (acetato, propionato y butirato) (157). Se calculó que las pérdidas de calor de fermentación total (F) eran constantes a 6,4% de la energía fermentada (E). La eficiencia de conversión (E) de la energía de hexosas a energía de AGV's se expresa:

$$E = \frac{100 (0.62pa + 1.092pp + 1.56pb)}{(pa + pp + 2pb)}$$

Donde:

pa, pp y pb son las proporciones molares de acetato, propionato y butirato en el líquido ruminal.

La proporción de energía de las hexosas pérdida como metano (M) es:

$$M = 100 - (6.4 + E)$$

La energía total fermentada de hexosas (H) está dada por:

$$H = \frac{\text{Producción de metano (KJ)} \times 100}{100 - (E + F)}$$

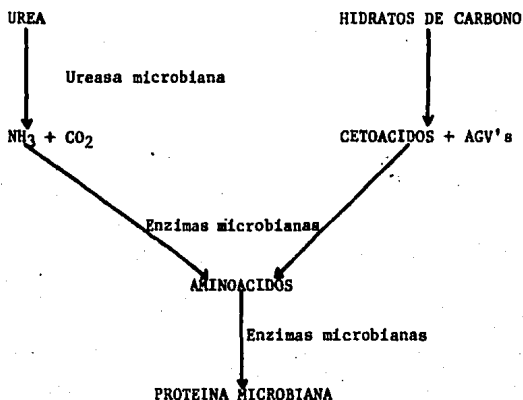
III.3. METABOLISMO RUMINAL DE NITROGENO NO PROTEINICO

Para que se pueda llevar a cabo el proceso de síntesis de proteínas, es necesario además de suficientes compuestos carbonados y fuentes de energía como el ATP (14,81,111), que existan fuentes de nitrógeno, al respecto, los microorganismos ruminales utilizan en mayor proporción al nitrógeno más soluble (siendo el nitrógeno no proteínico más soluble que el proteínico), por lo cual el empleo de este nitrógeno dentro de las raciones alimenticias tiene una gran importancia en la nutrición de rumiantes.

Chalupa (35) examinó los requerimientos de 44 especies bacterianas del rumen y encontró que el 80% crecían con amoníaco como única fuente de nitrógeno, 26% no crecían en presencia de amoníaco, aún cuando existiera en mínimas cantidades y 55% crecían con amoníaco o nitrógeno amino.

Las fuentes de nitrógeno no proteínico que se emplean con mayor frecuencia en nutrición de rumiantes, incluyen sales orgánicas e inorgánicas de amonio, alimentos y subproductos agrícolas amoniatizados, biuret y urea (14,103,115). En los subproductos agrícolas amoniatizados, existe una gran controversia en cuanto a la fijación del mismo en la paja en relación al NH_3 aplicado, reportándose valores de 18 a 74% (25,29,60,71,72,75,95,152).

Las reacciones que se llevan a cabo dentro del rumen para la síntesis de proteína microbiana a partir de urea son las siguientes (20,103):



En el fluido ruminal, el amoníaco predomina en su forma ionizada (NH_4^+) (36), lo que se explica por su alto pK de 8.8 a 40 C comparado al pH ruminal (5,35). Sin embargo, cuando el pH es alcalino, el NH_3 existe en forma libre (no ionizado).

La mucosa ruminal es permeable al NH_3 no ionizado, que es soluble en lípidos, pero impermeable a la forma ionizada (14,36). Esto significa que cuando el pH del rumen es ácido, la poza de NH_3 puede ser mantenida para que se lleve a cabo la síntesis de proteína microbiana (14), pero si no hay disponibilidad de hidratos de carbono y de energía (36), las concentraciones de NH_3 se elevan a tal grado que el pH ruminal se torna alcalino, favoreciendo la presencia de la forma no ionizada del NH_3 . Por lo tanto, su absorción se incrementa (36) y la síntesis de proteínas se deprime (14), y este NH_3 al absorberse se transporta al hígado, donde se metaboliza a urea (20). Cuando la cantidad de NH_3 excede la capacidad metabólica del hígado, éste pasa nuevamente a la sangre, provocando una intoxicación (36).

La urea metabolizada en el hígado puede seguir dos caminos, una parte se excreta por la orina (20) y la otra (aproximadamente 20%) pasa nuevamente al rumen por la vía salival o por la vía de la difusión atenuada a través del epitelio ruminal, donde el gradiente de concentración es importante para su movilización (36, 67,125).

La cantidad de nitrógeno reciclado al rumen parece estar relacionado negativamente con la concentración de amonio ruminal y positivamente con la concentración plasmática de urea y con la digestibilidad de materia orgánica en el rumen (20,115).

Los detalles del mecanismo de transporte de urea de la sangre al rumen a través del epitelio no son bien conocidos. La información disponible es contradictoria y aún no se tiene una explicación satisfactoria. La hipótesis del transporte de urea propuesto por Houpt (67) (Fig. 3), incluye primero la difusión de urea

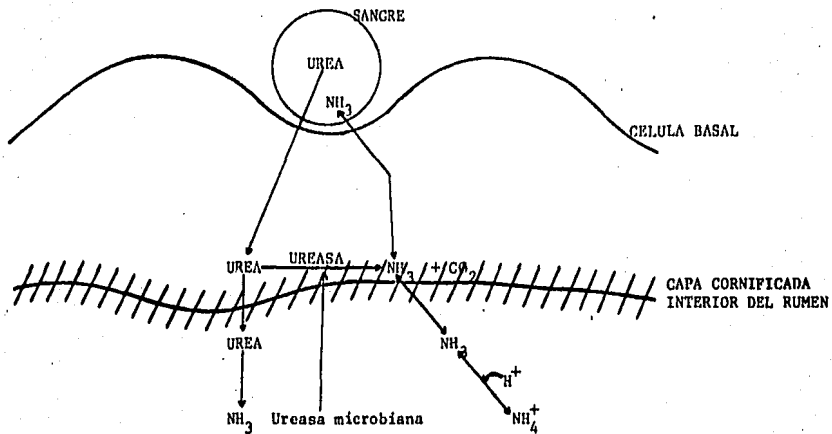


Figura 3. MECANISMO HIPOTETICO DEL TRANSPORTE DE N-UREICO (Haupt, 1970)

de la sangre hacia las cepas basales del epitelio (115). Una pequeña cantidad de esta urea puede continuar intercambiándose a través del epitelio ruminal hacia el interior del rumen, donde es rápidamente hidrolizada por la ureasa microbiana, una enzima intracelular (35) estimulada por Mn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} y Ba^{2+} e inhibida por Na^+ , K^+ , Co^+ , Zn^{2+} , Cu^{2+} y Fe^{2+} (36).

La penetración y difusión de la urea a través de las membranas celulares es más lenta que la del NH_3 , ya que éste es una molécula más pequeña y más soluble (su difusión es hasta 25 veces mayor) (67). Esta difusión en gran parte está determinada por un gradiente de concentración (36).

Una considerable cantidad de NH_3 (30-40% de las células microbianas) es reciclado por la predación de bacterias por protozoarios y por la lisis de los mismos (20).

La recirculación del nitrógeno y su utilización en el rumen es de suma importancia desde el punto de vista del balance y economía del nitrógeno (151).

Cuando la alimentación consiste en forraje de baja calidad, con gran cantidad de compuestos lignocelulósicos, la producción de AGV's se retarda, los cetoácidos formados son limitados y por tanto, existe una gran pérdida de NH_3 a través del epitelio de la pared ruminal y la producción de aminoácidos se reduce. Por esta razón es importante que exista un equilibrio entre la disponibilidad de NH_3 y los compuestos carbonados (14, 81). En base a esto se puede decir que al amoniatizar un forraje de mala calidad se tiende a incrementar la proporción de nitrógeno de un 28 a un 37% (4,6,54,83,91,95,104,105,106, 122,136,139,153,166), sin embargo, Herrera-Saldaña et al (60) y Smith et al (130) informan decrementos que van de 13.5 a 18% y Oji y Mowat (108,109) que es constante.

Las fuentes primarias de fragmentos carbonados son el CO_2 y los AGV's. Sin embargo, existen requerimientos específicos por isobutirato, indol-3-acetato, isovalerato, 2-metilbutirato y fenilacetato, que son necesarios para la síntesis de aminoácidos específicos (103).

El NH_3 en el rumen comprende una poza de nitrógeno dinámica que es alimentada por varias fuentes y tiene diferentes destinos (Fig. 4). Estas fuentes incluyen (20,35,115):

Fuentes de nitrógeno ruminal:

- a) Degradación de proteína verdadera e hidrólisis del nitrógeno no proteínico de la dieta.
- b) Hidrólisis de la urea reciclada en el rumen.
- c) Degradación de protoplasma microbiano.

Destinos del NH_3 ruminal:

- a) Síntesis de proteína microbiana.
- b) Absorción a través de la pared ruminal.
- c) Transferencia al tracto digestivo posterior.

Cualquier cambio de estos factores pueden alterar la concentración ruminal de NH_3 (20,35,115).

La poza de nitrógeno constituye cerca del 10% del nitrógeno ruminal total y se compone principalmente de nitrógeno amoniacal (aproximadamente el 70%) y en menor cantidad de una mezcla de aminoácidos libres y péptidos (20).

El nivel óptimo de NH_3 necesario para el crecimiento microbiano no es conocido con precisión, las estimaciones varían de 5 a 23 mg de N-NH_3 por 100 ml de contenido ruminal (18,20,111, 125,133).

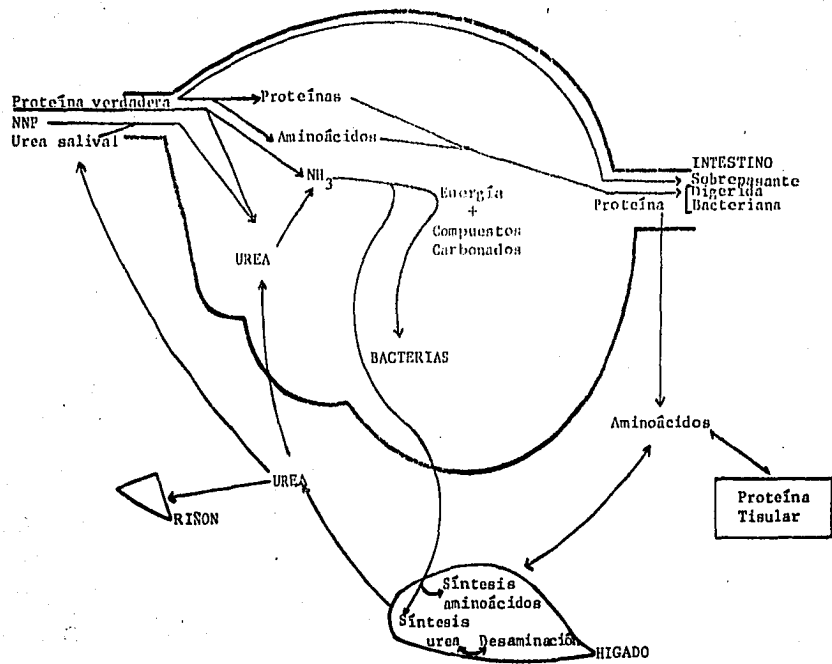


FIGURA 4. ORIGEN Y DESTINO DEL NH₃ RUMINAL (Houpt, 1970 y Sattler, 1981)

Bondi (20), encontró que incrementos en el consumo de nitrógeno, provocan elevaciones en la concentración de NH_3 , pero contradictoriamente la producción de proteína microbiana no sigue el mismo patrón, pues su producción presenta un máximo donde ya no responde a las concentraciones de NH_3 en el medio, lo cual produce un desperdicio de nitrógeno y una acumulación de NH_3 .

En dietas con niveles de proteína altos y suplementadas con urea, los microorganismos ruminales sintetizan proteína microbiana casi a expensas del nitrógeno proteínico (5,14,35), encontrándose que solamente 2/3 partes del N-NH_3 adicionado forma parte de las células microbianas. Por otro lado, en dietas escasas en nitrógeno orgánico, suplementadas con urea, la síntesis de proteínas se realiza a partir del nitrógeno no proteínico (35,81).

Por otro lado, Al-Rabbat *et al* (7) mencionan que existe una relación recíproca aparente entre la tasa de recambio de N-NH_3 y el tamaño de la poza de nitrógeno, resultando en rangos comparables de incorporación de N-NH_3 dentro de los microorganismos, indicando que la población microbiana es capaz de ajustar su consumo de N-NH_3 , así como la asimilación de una cantidad de nitrógeno constante. En su estudio probaron que la tasa de incorporación de N-NH_3 dentro de los microorganismos decrece gradualmente a partir de una concentración de N-NH_3 de 300 mg/Kg de digesta ruminal total, lo cual indicó una inhibición en su asimilación por los microorganismos.

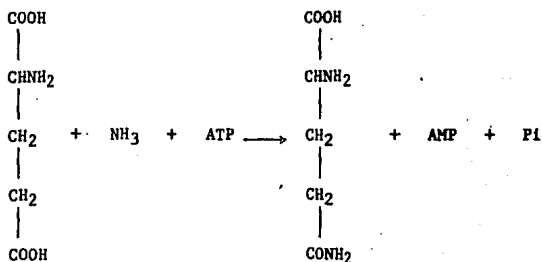
Las reacciones de aminación y transaminación (41) son las responsables de la asimilación del NH_3 por la mayor parte de la microbiota ruminal. La deshidrogenasa glutámica (5,21,89,103) juega un papel importante en la fijación del NH_3 a los compuestos carbonados y las transaminasas glutamato-oxalacetato y glutamato-

pirúvico (103) son importantes en la transferencia de NH_3 a otros esqueletos carbonados que están presentes en el fluido ruminal (35,36). Además de estas enzimas, existen otras que tienen un importante papel en la asimilación del NH_3 por las bacterias ruminales (35,103).

El ión amonio, en comparación con el amoniaco, parece ser el sustrato con mayor afinidad a la enzima deshidrogenasa glutámica (5). Esto es de suma importancia en las pajas amoniatizadas, ya que el ión amonio representa de 26.4 a 50% del nitrógeno total (25,29).

La reacción más común en la síntesis de proteína es la formación de ácido glutámico por la adición de NH_3 al ácido ceto-glutárico, procedente de la síntesis de aminoácidos no esenciales (129). En los microorganismos, el ácido glutámico puede ser convertido por transaminación en otros aminoácidos, tanto esenciales como no esenciales (20).

Otra reacción en que participa la fijación de NH_3 por los microorganismos, se debe a la adición de aminoácidos para formar amidas, teniendo como requerimiento energético, ATP:



Esta reacción se debe a que el NH_3 amídico (en CONH_2) es reactivo y transfiere los oxo-ácidos producidos en el rumen por la degradación de hidratos de carbono dentro de la cadena de aminoácidos (20).

Los requerimientos energéticos para la síntesis de proteína microbiana son bastante elevados. Las relaciones entre los requerimientos energéticos expresados en términos de enlaces fosfato de alta energía (ATP) y la cantidad de proteína microbiana formada son los siguientes (20):

- a) Para unir NH_3 a compuestos carbonados libres de nitrógeno se requieren 3 moles de ATP.
- b) Para unir una molécula de aminoácidos a una proteína, se requiere de 5 moles de ATP.
- c) Al hidrolizar anaeróbicamente 100 g de glucosa, se producen 2 moles de ATP y 1 mol de AGV's.

El trifosfato de adenosina (ATP) es el común denominador entre la síntesis microbiana y la desaparición de sustrato, además, el crecimiento microbiano es directamente proporcional a la cantidad de ATP generada del catabolismo de sustratos energéticos (18).

El rendimiento microbiano por unidad de glucosa se divide en los componentes: rendimiento de ATP y del Y_{ATP} . El rendimiento de ATP son los moles de ATP formados a partir de la fermentación de una mol de glucosa, y el Y_{ATP} representa los gramos de materia seca bacteriana sintetizada por mol de ATP (19). La eficiencia de síntesis proteínica en el rumen, se expresa como gramos de proteína cruda microbiana o nitrógeno sintetizado por 100 g de materia orgánica que desaparece en el rumen (18,114,148).

Stern y Hoover (133) observaron síntesis microbianas que variaban de 6.3 - 30.7 g/100 g materia orgánica aparentemente digestible, por lo cual propusieron un promedio de 16.9 g.

Por otro lado Buttery (27) encontró un valor medio de 20 g de proteína microbiana/100 g materia orgánica aparentemente digerida en rumen (18,55).

Estas diferencias se deben primordialmente a la composición y nivel del concentrado y de forraje dentro de la dieta.

En base al Y_{ATP} , Hogan y Nestor (65) mencionan que para algunos microorganismos es de 10-12 g de materia seca bacteriana/mol de ATP ($Y_{ATP}=10-12$). Se sabe que el Y_{ATP} no es constante y que puede variar con diferentes microorganismos, sustratos y cultivos continuos con variación a la tasa de dilución (62,134).

Numerosos investigadores indican un Y_{ATP} promedio de 10.5 g de materia seca bacteriana/mol de ATP (5,19,27,68,114,128). Mientras que Al-Rabbat y Heaney (7) asumieron un Y_{ATP} promedio de 15 g. Sin embargo, Hespell y Bryant (62) han encontrado eficiencias netas de crecimiento celular para cultivos mixtos ruminales entre 15 y 20 g de materia seca bacteriana/mol de ATP, y para bacterias aisladas entre 10 y 20 g. Por último Bergen y Yokoyama (18) encontraron valores de Y_{ATP} que oscilaban entre 5 y 20 g presentando un Y_{ATP} máximo teórico de 25.

En base al rendimiento por mol de AGV's, se han determinado eficiencias en mezclas de microorganismos ruminales in vitro equivalentes a 2.5 y 2.8 g de nitrógeno bacteriano/mol de AGV. Los valores de Y_{ATP} calculados de estos datos fueron de 12.8 a 14.4 (65).

Pruebas in vivo han demostrado que el incremento en la producción de propionato, provoca mejoras en el rendimiento de células microbianas (18).

El rendimiento bacteriano está determinado por varios factores (18,115):

- a) Necesidades de mantenimiento (19).
- b) Naturaleza de las fuentes de carbono y nitrógeno (19,106).
- c) Nivel de consumo (133).
- d) Presencia de energía requerida por otros procesos que forman el nuevo material celular.
- e) Composición celular (18,114).
- f) Tasa de crecimiento o tasa de dilución (114,133).
- g) Concentración bacteriana (114).
- h) Digestibilidad de proteína (133).
- i) Relación de N:S en la dieta (133).
- j) Concentración de NH_3 ruminal (7).

La eficiencia en la síntesis de proteínas microbianas se mejora a través de la reducción de los requerimientos de mantenimiento microbiano por medio del incremento en las tasas de recambio de líquidos (19).

Por otro lado, se ha discutido que el rendimiento bacteriano se determina por la disponibilidad de nutrientes y por la presencia de factores limitantes (114). La limitación de nitrógeno, azufre y algunos otros minerales y ciertos ácidos grasos volátiles de cadena ramificada, pueden inhibir o disminuir el crecimiento bacteriano. Cuando la disponibilidad de nitrógeno en el rumen es baja, las bacterias se desvían de la síntesis de proteína microbiana a la síntesis de polisacáridos intracelulares (128) y la composición química de las bacterias cambia radicalmente (115).

Se ha establecido una hipótesis sobre la existencia del mejoramiento en el crecimiento microbiano, por el incremento en la sintesis de protefna a partir de $N-NH_3$ de los subproductos o esquilmos agrícolas amoniatizados, suplementados con pequeñas cantidades de aminoácidos (7,106). De la misma forma, en dietas con alto contenido de nitrógeno, el 42 al 100% del nitrógeno bacteriano se sinretiza del NH_3 (7,36).

La utilización del nitrógeno puede ser disminuída por una deficiencia de azufre; con relaciones de N:S mayores de 10:1, la producción de protefna bacteriana disminuye (20,115,133). Se han observado incrementos en la producción de protefna microbiana de 82 a 94 g/día, provocados por el incremento en el consumo de azufre de 0.61 a 1.95 g/día (35).

Es de considerable interés el efecto del incremento en la tasa de dilución sobre la composición macromolecular de las células microbianas producidas (18), ya que se han encontrado incrementos en el contenido de RNA y relativos decrementos en el DNA y proteínas, posiblemente debido a la acumulación de cenizas o almidón, provocando dilución de los nutrimentos (148).

A pesar de todo lo enunciado anteriormente, la limitación más importante en la síntesis de protefna microbiana, es la ausencia o escasez de energía, pues de hecho la anerobiosis en el rumen tiene una limitada eficiencia (103) si se compara con la aerobiosis, produciendo de un mol de glucosa solo 3.5 a 5.6 moles de ATP, dependiendo de la producción de los productos finales de la fermentación (12,68,114).

III.4. CINETICA RUMINAL

La eficiencia del crecimiento bacteriano está directamente relacionada con la tasa de dilución de las bacterias y/o del contenido ruminal, pero debido a que las bacterias en el rumen están parcialmente asociadas con los sólidos y con la pared ruminal, la tasa de crecimiento bacteriano puede ser o no necesariamente paralela a la tasa del líquido (114,115), lo cual se explica porque solamente en cultivos continuos de estado estable, la tasa de crecimiento específico (μ) de los microorganismos es igual a la tasa de dilución (D) del cultivo (19).

El sistema de cultivo continuo referido "quimioestado", ha sido empleado por los nutriólogos para el estudio de los aspectos básicos de la fermentación ruminal. Este sistema de cultivo controla el crecimiento celular por medio de la tasa de adición de sustrato y de la tasa de dilución en un volumen fijo (19).

Obviamente, el rumen no es una réplica exacta de este modelo (Cuadro V); sin embargo, su similitud en algunos puntos es suficiente para aplicar la teoría de alimentación continua (68), pues ambos siguen cinéticas de primer orden (19).

La fermentación ruminal tiene características tanto de un sistema Batch como uno continuo, donde un sistema continuo es cuando la masa fermentada, el flujo y los residuos alimenticios salen en cantidad equivalente a los que entran. El rumen varía del modelo de fermentación continua, porque el alimento consumido por el animal, el volumen, la tasa de secreción y la tasa a la cual sale el material del rumen no son constantes (68). Así se tiene que a bajas tasas de dilución ruminal (principalmente con alimentación con alto contenido en fibra), la fermentación ruminal generalmente se asemeja a un cultivo Batch y la eficiencia de rendimiento celular (Y_{ATP}) es relativamente bajo y constante.

CUADRO V

COMPARACION ENTRE LAS CARACTERISTICAS DEL QUIMIOSTATO Y EL RUMEN

FACTOR	QUIMIOSTATO	RUMEN
ESTADO CONSTANTE O ESTABLE	SI	No (Depende del nivel y tipo de alimentación).
CONCENTRACION BACTERIANA (X)	CONSTANTE	Variable en base al tipo de alimentación.
CONCENTRACION DE SUSTRATO (S)	CONSTANTE	Variable en base al ciclo de alimentación.
TASA DE DILUCION (D)	CONSTANTE	Variable en base al ciclo y tipo de alimentación
RENDIMIENTO CELULAR (Dx)	CONSTANTE	Variable en base al tipo de alimentación.
CULTIVO CONTINUO	SI	Si, cuando la alimentación se basa en granos. No, cuando la alimentación se basa en forrajes con alto contenido en fibra.
MEZCLADO	PERFECTAMENTE LIQUIDO	Existe fase líquida y sólida.

Fuente.: Bergen, W.G. (1979).

Por otro lado, en condiciones dietarias (principalmente granos) que presentan altas tasas de dilución, la fermentación ruminal se asemeja a un cultivo continuo, con altas tasas de eficiencia energética para la síntesis de proteína microbiana (19,33).

Un sistema de fermentación continuo está descrito por la tasa de dilución o de recambio (D), el volumen (V), la tasa de flujo (F) y el tiempo de retención (Tr).

La tasa de dilución, es la cantidad de digesta (como peso o proporción del volumen ruminal) que sale del rumen en un tiempo dado, la cual se expresa en h^{-1} ó $\% h^{-1}$ (45,86,133); en otras palabras la tasa de dilución representa la tasa de flujo (F) por unidad de volumen (V) (119). La relación V/F se denomina tiempo de retención, el cual es el tiempo requerido para cambiar una cantidad (V) de digesta igual a la presentada en el rumen (68), o bien, es el tiempo promedio que permanecen las partículas en el rumen (26,68).

Teóricamente las tasas de dilución muy altas, pueden causar ineficiencias a través de la pérdida de sustrato no fermentado, la cual conduce a una reducción en la digestibilidad (148) y una competencia entre la dilución y el tiempo de generación celular.

El incremento en la tasa de dilución propicia un aumento en la tasa de crecimiento bacteriano (59,133) y por ende, la eficiencia del crecimiento bacteriano (V_{ATP}) asciende a valores más altos (19,49,61,114). Aunado a este fenómeno, la utilización de nitrógeno no proteínico se incrementa (26), la proteína dietaria sobrepasa el rumen en mayor proporción, se reduce el almacenamiento bacteriano intracelular de almidón, potencialmente se reduce el tiempo para la digestión de la fibra, decrece el número de protozoarios, se puede presentar un cambio macromolecular de las células microbianas y existe la posibilidad de presentarse cambios en los productos finales de fermentación (18).

Los factores más importantes en la determinación de la eficiencia con la cual el animal utiliza una cantidad dada de alimento son: la tasa de dilución de la digesta ruminal, el grado de rompimiento de la digesta, la naturaleza de los productos finales de la degradación y los requerimientos nutricionales del animal (11).

En lo que respecta a los coeficientes de degradación, éstos pueden ser afectados por incrementos en la tasa de dilución (26). El aumento en la tasa de digestión (cantidad de alimento digerido por unidad de tiempo), produce una menor degradación de las proteínas naturales del alimento y de la fibra, por lo que la tasa de dilución tiene un marcado efecto depresor sobre la degradación de estos nutrimentos (26).

La tasa de dilución influye sobre el patrón de fermentación ruminal, pues existe una interrelación negativa entre la proporción molar del propionato y la tasa de dilución (32,36,48,58,59,66). Cálculos estequiométricos indican que la eficiencia fermentativa es menor a mayores tasas de dilución, porque menos hidrógeno metabólico es recuperado en los AGV's y porque más enlaces α de polímero de glucosa escapan de la fermentación (36), aunque se obtiene un total de energía ruminal de salida similar.

La producción de AGV's no se ve afectada con la variación del tiempo de retención (48,66). Por otro lado, la tasa de fermentación aumenta con el incremento en la tasa de dilución, hasta el punto en que el sistema empieza a saturarse con el sutrato (32,68).

Los tiempos de retención largos, correlacionan con grandes volúmenes ruminales, lentas tasas de fermentación y altas digestibilidades (32,66,68). La tasa de dilución de los protozoarios es mucho más lenta que la de los líquidos, lo que sugiere un considerable grado de secuestro de estos organismos en el rumen (114,159).

La digestibilidad ruminal no se considera una función lineal a la tasa de paso, porque decrece exponencialmente con el incremento en la tasa de dilución (98).

Los factores que influyen sobre la tasa de dilución de líquidos y sólidos son:

- a) Consumo y composición del alimento (11,26, 50,99,112,114,132,133,143).
- b) Volumen ruminal (64).
- c) Presión osmótica ruminal (36,48,80).
- d) Flujo salival (49,64,156).
- e) Tamaño (11,26,50,68,98,158) y gravedad específica (114,115) de las partículas ingeridas.

Como se puede observar, factores dietarios como el nivel de consumo, la proporción de inclusión de forrajes y composición física y química de la dieta, muestran fuertes efectos sobre la tasa de dilución (49).

El incremento en el consumo voluntario, causa un ascenso en la tasa de dilución de los residuos alimenticios (26,137,156). Por otro lado, el consumo voluntario y la capacidad ruminal presentan una relación directamente proporcional (11).

Tomando en cuenta que el contenido ruminal presenta una fase líquida compuesta de material soluble y una sólida de material insoluble, se ha observado que al incrementarse el consumo, el volumen o la tasa de dilución de líquidos, presenta un comportamiento ascendente ($r=0.61$ en borregos) (26,49,137,156). Sin embargo, se han observado diferencias poco significativas entre el consumo y la tasa de dilución de sólidos en borregos ($r=0.479$) (26,50,97,143).

Evans (49,50) al realizar estudios con borregos, observó que al elevar el contenido de energía digestible (ED) en la dieta, se deprime la tasa de dilución de líquidos, pero sufre un incremento con la elevación en el consumo de energía digestible y en la proporción de forraje en la dieta. Las altas tasas de dilución de sólidos provocadas por el incremento en la inclusión de rastrosos en la dieta, pueden estar asociadas con el incremento en la rumia y la salivación (48,50). Por lo contrario, Owens e Issacson (114) afirman que la inclusión de concentraciones elevadas de fibra dentro de la dieta, causa una disminución de la tasa de dilución de sólidos, mientras que la de líquidos, bacterias y pequeñas partículas ascienden.

En borregos, el tiempo de retención y el consumo voluntario están altamente correlacionados con el contenido de lignina de la dieta (97):

$$C = 2761 - 835.2 L + 82.2 L^2 \quad (r=0.97)$$

$$Tr = 5.78 + 3.79 L \quad (r=0.992)$$

Donde:

C= Consumo

L= Fracción de lignina en el alimento

Tr= Tiempo de retención

Por medio de esta relación se concluye que el contenido de fibra (lignina) en la dieta, influye directamente sobre el tiempo de retención, el cual es el mayor limitante del consumo de materia seca de forrajes toscos (97). Asimismo, se ha informado (66) que tiempos de retención elevados, incrementan la digestibilidad de materia seca (118), fibra detergente ácido (FDA) y el número de protozoarios.

Cuando se ofrecen dietas con rastrojos amoniatizados, el consumo y la tasa de dilución de sólidos (167) se incrementa con respecto al aumento en el nivel de amoniatización; mientras que el volumen de sólidos decrece (7), la tasa de dilución y el volumen de líquidos no sufren cambios constantes (106). De forma similar, la inclusión de urea en la dieta, incrementa la tasa de dilución y el consumo y por ende las ganancias, o sea, que se mejora la tasa de digestibilidad y se reduce el tiempo de retención (8).

La presión osmótica del fluido ruminal juega un papel muy importante en la regulación de la tasa de dilución de líquidos, ya que tanto el flujo de agua como la permeabilidad ruminal, están influenciados por ella (36). El incremento en la osmolaridad ruminal causa aumentos en el flujo y consumo de agua, lo cual se refleja en un incremento en la tasa de dilución (48).

La osmolaridad del fluido ruminal en borregos se incrementa durante la alimentación, principalmente cuando los animales son alimentados con dietas a base de concentrados o ensilados (80).

La saliva no solo incrementa la tasa de dilución de líquidos en el rumen y arrastra los productos finales de la fermentación, sino que también incrementa la acción buffer en el rumen y previene caídas en el pH, lo cual puede inhibir o completamente parar la acción bacteriana (63).

La cantidad de agua en el rumen se afecta por la secreción salival, la difusión a través del epitelio, la ingestión y el paso del contenido hacia el omaso (156). El volumen de agua que entra al rumen vía ingestión oral, es generalmente más grande que el volumen de sólidos, además de que hay que considerar que el líquido se introduce al rumen por la secreción salival durante la masticación, por esta razón el líquido sale del rumen más rápidamente que la fracción sólida (49).

El tamaño y la gravedad específica de las partículas es probablemente el factor de mayor importancia para determinar la velocidad de salida de las partículas de digesta del rumen (11).

La interacción entre la tasa de dilución de los hidratos de carbono y la digestión, tiene implicación por el tamaño, densidad y distribución de las partículas (26). El tiempo de retención en el rumen y la digestión total, decrecen con la reducción del tamaño de la partícula (11,18,26).

En el rumen es de suma importancia la producción de pequeñas partículas durante la masticación y la rumia (99,158), ya que éstas pasan al abomaso más rápidamente, especialmente las primeras horas después de la ingestión, mientras que las partículas grandes son retenidas en el rumen por la rumia (11) y retenidas por las proyecciones del epitelio cornificado localizado alrededor del orificio retículo-omasal (68), además éstas son acumuladas en mayor proporción en la parte ventral del rumen cuando presentan altas densidades específicas.

La estimación de la tasa de dilución, del tiempo de retención, del volumen y del flujo de la digesta ruminal, puede realizarse mediante el empleo de marcadores.

Para elegir un marcador, es necesario que éste cumpla con las siguientes características (51,86):

- a) Inerte, para evitar efectos tóxicos fisiológicos.
- b) Indigerible, no metabolizado ni absorbido y completamente excretado.
- c) No ser muy voluminoso.
- d) No tener influencia sobre la secreción alimenticia, digestión, absorción y normal motilidad y excreción.

- e) Mezclarse íntimamente con el alimento y permanecer uniformemente distribuido en la digesta.
- f) No afectar ni ser afectado por la flora microbiana.
- g) Ser fácilmente analizado a nivel laboratorio.

Sin embargo, hasta la fecha, ningún marcador disponible satisface todos estos requisitos.

Las técnicas de marcadores deben ser consideradas en relación al método de administración del marcador y el método de muestreo. El marcador puede administrarse continuamente a una tasa constante, o bien, en una sola dosis, ya sea por medio del alimento o por infusión ruminal. En el muestreo se deben tomar pequeñas muestras de la digesta en tiempos sucesivos (5).

Los marcadores se dividen en marcadores solubles en líquidos y en sólidos (142). Entre los principales marcadores relacionados a la fase líquida se encuentra el polietilenglicol (16,45,64) y el Cr^{51} -EDTA (43,45,141,156,160), antiprenos y N-acetil-4-aminoantipreno (68).

Por otro lado, los relacionados a la fase sólida se pueden mencionar como los más importantes a los complejos de Ru (92), Ce (141) y Cr_2O_3 (44,141,161).

Downes (43) y Thomas (142) informan que el Cr^{15} -EDTA da mejores resultados que el polietilenglicol, ya que el segundo es pobremente recobrado de la digesta, porque precipita o se une a la fase sólida. Sin embargo, otros autores mencionan que el polietilenglicol se recobra eficientemente (16,64).

En relación al Cr_2O_3 , algunos estudios indican que cuando es empleado para medir flujos, puede ser sobreestimado en un 4 a 6% (142). El empleo de Cr_2O_3 impregnado en papel y suministrado 2 veces al día o introducido en cápsulas de gelatina y administrado una vez al día, al muestrear periódicamente, se obtuvieron recuperaciones del 99.3 y 98% respectivamente (142). En el estudio realizado por Wilkinson y Prescott (161) se citan recuperaciones de Cr_2O_3 en heces del 85 al 91%. Por otro lado, Hungate (68) menciona haber obtenido hasta un 82% de recuperación.

Los bajos porcentajes pueden estar asociados con el método de suministro del Cr_2O_3 y del muestreo (45,161). Sin embargo, se ha observado una variación diurna en la excreción del Cr_2O_3 , teniendo una concentración más baja durante la noche (161), lo cual altera los resultados de recuperación.

El Cr_2O_3 puede suministrarse con diferentes vehículos como la pulpa de papel, alimento peletizado, las cápsulas de gelatina y el alimento amordantado, pero independientemente del vehículo empleado se obtendrán irregularidades en el muestreo de heces y digesta ruminal, probablemente debido a variaciones en la secreción salival o a la ingesta de agua.

La cantidad de saliva producida por un borrego varía de 5 a 10 l/día. Este volumen salival hace más difícil la estimación del volumen de líquidos que pasan por el rumen, pues algo del líquido salival queda atrapado en el interior de las grandes partículas sólidas (68). Por otro lado, la variación en la concentración de Cr_2O_3 puede estar relacionada al patrón de consumo de alimento, tasa de digestión y tasa de dilución de residuos indigeribles a través del rumen (161).

Para la determinación del volumen, se asume que las condiciones de volumen de agua en el rumen permanecen constantes durante el experimento, y la tasa de flujo de agua dentro y fuera del rumen es continua y permanece constante durante el experimento. En esta técnica, una cantidad conocida de marcador se administra directamente dentro del rumen y se toman muestras del contenido ruminal a diferentes intervalos de tiempo. Asumiendo una condición de equilibrio y una rápida homogeneización del marcador, se tiene una relación exponencial (141,149) entre la concentración del marcador y el tiempo, que puede expresarse en escala de logaritmo natural y graficarse como una línea recta (86,149). Cuando esta línea se extrapola con el tiempo cero, se puede estimar la concentración del marcador al tiempo de la dosificación (86).

Teniendo la ecuación de la recta:

$$Y = kX + b$$

Donde:

- k = Pendiente de la recta
- b = Intersección con el eje Y
- Y = Concentración del marcador
- X = Tiempo de muestreo

y sabiendo la teoría de las reacciones de primer orden (68, 99):

$$\frac{d[A]}{dt} = -kA$$

integrando se tiene:

$$A = A_0 e^{-kt}$$

Donde:

$$\frac{d[A]}{dt} = \text{Velocidad a la que disminuye la concentración de A.}$$

k = Constante de velocidad.

Gracias al uso de marcadores, se puede calcular una serie de parámetros de suma importancia en el sistema de cultivo continuo, como:

a) Volumen ruminal (V):

$$V \text{ (g o ml)} = \frac{\text{g de marcador infundido}}{\text{antilogaritmo natural } b}$$

b) Tiempo medio ($t_{1/2}$):

$$t_{1/2} \text{ (h)} = \frac{\ln 2}{k}$$

$$t_{1/2} \text{ (h)} = \frac{\sum_{i=1}^n C_i t_i}{\sum_{i=1}^n C_i} \quad (51)$$

$$\text{En base a la ecuación: } A = A_0 e^{-kt} \quad (45)$$

Donde:

b = Intercepto de la recta con el eje Y

k = Pendiente de la recta

C = Concentración del marcador al tiempo i

t = Tiempo

A = Concentración del marcador a un tiempo determinado (t)

A_0 = Concentración del marcador al tiempo cero

c) Flujo ruminal (F):

$$F \text{ (g o ml/h)} = \frac{\text{Volumen ruminal (g o ml)}}{2 (t_{1/2})}$$

$$F \text{ (g o ml/h)} = \frac{0.693 (\text{Volumen ruminal})}{t_{1/2}} \quad (160)$$

d) Tasa de dilución (D):

$$D \text{ (h}^{-1} \text{ ó } \% \text{ h}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Flujo ruminal (g o ml/h)}}{\text{Volumen ruminal (g o ml/h)}} \quad (45,51,119)$$

$$D \text{ (h}^{-1} \text{ ó } \% \text{ h}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Consumo de alimento}}{\text{Volumen de digesta ruminal}} \quad (26)$$

e) Tiempo de retención (Tr):

$$\text{Tr (h)} = \frac{\text{Volumen ruminal (g o ml)}}{\text{Consumo de alimento (g)}} \quad (26)$$

$$\text{Tr (h)} = Q_c X_i / Q_i X_c \quad (149)$$

Donde:

X_c = Concentración del marcador en la digesta ruminal.

X_i = Concentración del marcador en la dieta.

Q_c = Proporción del contenido de materia seca en el rumen.

Q_i = Proporción del consumo dietario por unidad de tiempo.

Es importante tener en cuenta que existe una gran variedad en cuanto al efecto del animal sobre los resultados cinéticos, aún con la misma dieta (5).

IV. OBJETIVOS

IV.1. GENERAL

- a) Evaluar el comportamiento ruminal de ovinos alimentados con dietas formuladas con 50% de rastrojo de maíz tratado y sin tratar con amoníaco anhidro y suplementadas o no con 0.5% de urea.

IV.2. ESPECIFICOS

- a) Evaluar la composición química y la digestibilidad del rastrojo de maíz tratado y sin tratar con amoníaco anhidro.
- b) Determinar los parámetros de fermentación ruminal, la cinética de líquidos y sólidos en rumen y la digestibilidad in vitro de materia seca, la desaparición in situ y la digestibilidad in vivo de materia seca, nitrógeno y fracciones de fibra en ovinos alimentados con dietas conteniendo 50% de rastrojo de maíz tratado y sin tratar con amoníaco anhidro.

V. MATERIAL Y METODOS

Esta investigación se realizó en el Departamento de Nutrición Animal de la División de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" y en el Departamento de Nutrición Animal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, Unidad Central, Palo Alto, D.F.

V.1. TRATAMIENTO DEL RASTROJO DE MAIZ

Un lote de 285 pacas de rastrojo de maíz (6,280 K), se adquirió del Rancho Canaleja, Municipio San Pedro Totoltepec, Estado de México. Este se trató siguiendo el procedimiento del Método Noruego descrito por Sundstøl et al (135). Las pacas se apilaron sobre un plástico transparente de 0.4 mm de espesor, dejándose un espacio del perímetro libre para poder sellar la pila. Esta se cubrió por la parte superior con otro plástico, éste se unió con el plástico inferior, dejándose un orificio sin sellar, por el cual se introdujo hasta el centro de la pila un tubo galvanizado de 5 cm de diámetro con varias perforaciones en los 6 m de longitud del tubo. Por medio de éste se inyectaron 240kg de amoníaco anhidro (4% en base a materia seca), que se obtuvo de Fertilizantes Mexicanos. Inmediatamente después de suministrado al amoníaco, se sacó el tubo de la pila y se cerró el orificio para evitar que se fugara el gas durante los 30 días de reacción. Después de transcurrido este tiempo, se quitó el plástico superior y se dejó evaporar el amoníaco libre durante 7 días.

V.1.1. EVALUACION DEL RASTROJO DE MAIZ

El rastrojo de maíz tratado y sin tratar con amoníaco anhidro se caracterizó por medio del análisis químico proximal siguiendo los métodos de la A.O.A.C. (9) y se le determinó fracciones de fibra según la metodología de Van Soest (145,146) y Goering

(53). Por otro lado, se sometió a pruebas de digestibilidad in vitro de materia seca por el método de Tilley y Terry (144) y modificación de Minson (100) y desaparición in situ de materia seca, nitrógeno paredes celulares por el método de la bolsa de nylon propuesto por Mehrez (96), Ørskov (113), Rodríguez (120) y Kempton (82), con períodos de incubación de 0,1.5,3,6,12 y 24 h para la materia seca y de 6,12 y 24 h para nitrógeno y paredes celulares.

V.2. ELABORACION DE DIETAS EXPERIMENTALES

En la elaboración de las dietas experimentales, se consideraron dos factores: el efecto del tratamiento con amoníaco anhidro sobre el rastrojo de maíz, probando los niveles de 0 y 4% (en base a materia seca) y el efecto de la adición de otra fuente de nitrógeno no proteínico, como la urea, probándose los niveles de 0 y 0.5% (en base a materia seca). En base a estos factores, se tuvieron 4 dietas experimentales, con una inclusión fija del 50% de rastrojo de maíz tratado y sin tratar con NH_3 . Las dietas se balancearon con base en 50% de rastrojo de maíz sin tratar con y sin urea, tomando los requerimientos establecidos por el NRC (107) para ovinos de 30 kg en etapa de finalización.

La composición de las dietas se presentan en el Cuadro VI.

Las dietas fueron elaboradas en 3 lotes en la planta de alimentos balanceados del INIFAP, empleando un molino de martillos, una mezcladora vertical y una enmelzadora horizontal, obteniendo un tamaño de partícula de 1.5 cm. Las dietas de cada lote fueron sometidas al análisis químico proximal (9,15) y a la determinación de fracciones de fibra (53,145,146).

CUADRO VI

COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES PARA LAS PRUEBAS METABOLICAS EN OVINOS

I N G R E D I E N T E S (%)	D	I	E	T	A	S ¹
	RST	RSTU		RT		RTU
RASTROJO DE MAIZ SIN TRATAR	50.0	50.0		—		—
RASTROJO DE MAIZ TRATADO (4% NH ₃)	—	—		50.0		50.0
SORGO	22.6	29.3		22.6		29.3
PASTA DE GIRASOL	20.4	13.2		20.4		13.2
MELAZA	5.0	5.0		5.0		5.0
UREA	—	0.5		—		0.5
SAL MINERALIZADA, VITAMINAS A y D	2.0	2.0		2.0		2.0

En las 4 dietas se incluyó ~~rumensina~~ ~~rumensina~~ sódica², 25 g/ton.

- Componentes principales: Rastrojo sin tratar (RST), Rastrojo sin tratar + urea (RSTU), Rastrojo tratado (RT) y Rastrojo tratado + urea (RTU).
- Rumensin, Elanco Mexicana, S.A. de C.V.

V.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

El efecto de la amoniatización sobre el valor nutritivo del rastrojo de maíz, fue evaluado mediante pruebas metabólicas in vivo durante 4 periodos, en los cuales se midieron algunos parámetros ruminales. Para ésto se emplearon 8 borregos Pelibuey, machos de 6 meses de edad, con un peso promedio de 25 K, con ffs tula permanente en rumen (22) y desparasitados tanto interna como externamente. Para la evaluación de las dietas, los animales fueron distribuidos al azar en 8 unidades experimentales de un animal cada una. La distribución de las dietas a los ovinos se realizó siguiendo un diseño de doble cuadrado latino 4 x 4, con arreglo factorial 2 x 2 (Cuadro VII).

Los ovinos fueron colocados al azar en 8 jaulas metabólicas de acero inoxidable con comederos y bebederos individuales, de tal forma que ningún animal tuviera acceso al alimento de otro.

Cada uno de los periodos tuvo una duración de 21 días, de los cuales 14 fueron de adaptación a las dietas y 7 de recolección de muestras biológicas (heces y contenido ruminal) y determinación de digestibilidades in situ. Las dietas fueron intercambiadas después de cada periodo, de tal forma que todos los animales recibieran las 4 dietas (Cuadro VII).

En el periodo de adaptación, las dietas fueron ofrecidas ad libitum, registrándose diariamente el consumo voluntario, el cual posteriormente se redujo en un 10% durante el periodo de recolección de muestras biológicas, con el fin de asegurar su consumo total.

Para la determinación diaria de la digestibilidad aparente in vivo, antes de la alimentación se recolectaron y pesaron las heces totales de cada animal (126), tomándose una alícuota del 10% para análisis posteriores; además se registró la cantidad de

CUADRO VII

DISTRIBUCION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES A LOS OVINOS
DURANTE LOS 4 PERIODOS DE ESTUDIO

P E R I O D O	A		N		I		M		A		L		E		S	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1°	RST	RSTU	RT	RTU					RST	RTU	RSTU	RT				
2°	RSTU	RST	RTU	RT					RTU	RST	RT	RSTU				
3°	RT	RTU	RSTU	RST					RSTU	RT	RTU	RST				
4°	RTU	RT	RST	RSTU					RT	RSTU	RST	RTU				

alimento ofrecido y rechazado, para poder analizar el balance de materia seca, nitrógeno y fracciones de fibra. Posteriormente, las muestras diarias de las dietas y las heces de cada animal y de cada dieta, se mezclaron para hacer una sola muestra. Esta se dividió en dos partes; una para determinaciones en húmedo de proteína cruda (9) y humedad (9) y otra seca para determinaciones de fracciones de fibra (53,145,146). Conociendo los porcentajes de proteína cruda, materia seca y fracciones de fibra tanto del alimento como de las heces de cada dieta, se determinó la digestibilidad aparente de cada uno de los nutrimentos antes determinados.

En los dos primeros días de la recolección de heces, se llevó a cabo la prueba de desaparición in situ (82,96,113,120), por duplicado con períodos de incubación de 0,1.5,3,6,12 y 24 h después de ofrecido el alimento. Después de ser sacadas las bolsas del rumen, se lavaron hasta obtener un líquido de enjuague claro y transparente, se secaron con vacío a 60 C y se guardó el residuo alimenticio para posteriores análisis.

A los residuos alimenticios de las dietas digeridas in situ a las 6,12 y 24 h se les determinó el contenido de nitrógeno (9) y fracciones de fibra (53,145,146), con la finalidad de poder determinar su digestibilidad in situ. Al mismo tiempo, las dietas experimentales se sometieron a la evaluación de digestibilidad in vitro de materia seca (100,144).

Al tercer día de la recolección de heces, se introdujo por la cánula ruminal de cada animal, 10 g de polietilenglicol disuelto en 100 ml de agua (marcador soluble en líquidos) y 5 g de Cr_2O_3 envuelto en papel filtro libre de cenizas (marcador soluble en sólidos). Esta introducción se llevó a cabo al momento de ofrecer el alimento. Antes de adicionar los marcadores se tomó una muestra de 100 ml de contenido ruminal, posteriormente se tomaron muestras a las 1.5,3,6,12, 24 y 32 h.

A las muestras de contenido ruminal se les determinó inmediatamente el pH por potenciometría (15) y se les centrifugó a 3,000 r.p.m. durante 15 min. para separar la fase líquida de la sólida. La fase sólida se colocó en cajas de Petri para secarla a 90 C. Posteriormente la muestra fue molida y guardada para la determinación de óxido de cromo, mediante el método propuesto por Czarnocki et al (34).

La fase líquida se dividió en tres partes:

- a) Para determinar amoníaco anhidro por destilación (15). Para evitar pérdidas de amoníaco, la muestra fue preparada con la adición de unas gotas de ácido clorhídrico (HCL) 0.1 N en 10 ml de la fase líquida.
- b) Para determinar ácidos grasos volátiles por cromatografía de gases según el método propuesto por Erwin et al (47). La muestra fue preparada para detener la fermentación, adicionando unas gotas de cloruro de mercurio saturado a 10 ml de la fase líquida.
- c) Para determinar polietilenglicol (PEG) según metodología de Hydén (69) y modificada por Malawer (94).

Todas las muestras se etiquetaron y congelaron hasta el momento de realizar sus determinaciones.

Para la determinación de volumen, flujo, tasa de dilución y tiempo de recambio de sólidos y líquidos, se graficó la concentración del marcador en escala de logaritmo natural (ln) contra el tiempo de muestreo, por medio de la cual se obtuvo la pendiente (k) y el intercepto del eje Y (b) (concentración del marcador al tiempo de infusión); sustituyendo sus valores en las siguientes fórmulas (26,45,51,119,149):

- a) Volumen ruminal (g o ml) = $\frac{g \text{ marcador infundido}}{\text{antilogaritmo natural } b}$

$$b) \text{ Flujo ruminal (g o ml/h)} = \frac{\text{Volumen ruminal (g o ml)}}{2 (t_{1/2})}$$

$$c) \text{ Tiempo medio } (T_{1/2}) \text{ (h)} = \frac{\ln 2}{k}$$

$$d) \text{ Tasa de dilución (h}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Flujo ruminal (g o ml/h)}}{\text{Volumen ruminal (g o ml)}}$$

$$e) \text{ Tiempo de retención (h)} = \frac{\text{Volumen ruminal (g o ml)}}{\text{Flujo ruminal (g o ml/h)}}$$

V.4. ANALISIS ESTADISTICO

En este estudio se empleó un diseño de doble cuadrado latino 4 x 4, con arreglo factorial 2 x 2 (30), siendo sus factores y sus niveles:

Factor A: NH₃ _____ Niveles: 0 y 4%

Factor B: Urea _____ Niveles: 0 y 0.5%

El modelo lineal para este diseño es (30,131,132):

$$Y_{ijklm} = \mu + C_i + R_j + Q_k + \alpha_1 + \beta_m + (\alpha\beta)_{im} + \epsilon_{ijklm}$$

Donde:

Y_{ijklm} = Observaciones en cuadro i, renglón j, columna k, nivel l del factor A, y nivel m del factor B.

μ = Media de la población

C_i = Efecto del cuadro $i = 1, 2$

R_j = Efecto de renglón (Período) $j = 1, 2, 3, 4$

Q_k = Efecto de columna (Animal) $k = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8$

α_1 = Efecto del NH₃ $1 = 1, 2$

- β_m = Efecto de la urea $m = 1,2$
 $(\alpha\beta)_{lm}$ = Interacción entre NH_3 y urea
 ϵ_{ijklm} = Error aleatorio

A los resultados obtenidos se les aplicó el análisis de varianza de acuerdo al diseño empleado (30,132). La diferencia entre medias se analizó empleando la prueba de Tukey (132), con un nivel de significancia de $P < 0.05$.

VI. RESULTADOS

VI.1. CARACTERISTICAS QUIMICAS Y DIGESTIBILIDAD DEL RASTROJO DE MAIZ TRATADO Y SIN TRATAR CON AMONIACO ANHIDRO

Los resultados del análisis químico proximal y la desaparición de la materia seca, nitrógeno y paredes celulares in situ a las 24 h y la digestibilidad de la materia seca in vitro a las 48 h, se presentan en el Cuadro VIII, donde se observa que la amoniatización no tuvo efecto sobre el contenido de cenizas, FDA, celulosa y lignina. El contenido de proteína cruda y el nitrógeno amoniacal, se incrementaron significativamente ($P < 0.05$) con el tratamiento con NH_3 en un 134 y 293% respectivamente, teniéndose un nivel de incorporación de NH_3 en el rastrojo de 39.64%. Por otro lado, las paredes celulares y la hemicelulosa presentaron decrementos significativos ($P < 0.05$) de 19.6 y 38% respectivamente.

Los incrementos observados en la desaparición de la materia seca y paredes celulares in situ y de la digestibilidad de la materia seca in vitro fueron de 18%, siendo estadísticamente significativos ($P < 0.05$); la desaparición de nitrógeno in situ presentó aumentos mayores que ascendieron hasta un 26% por efecto de la amoniatización.

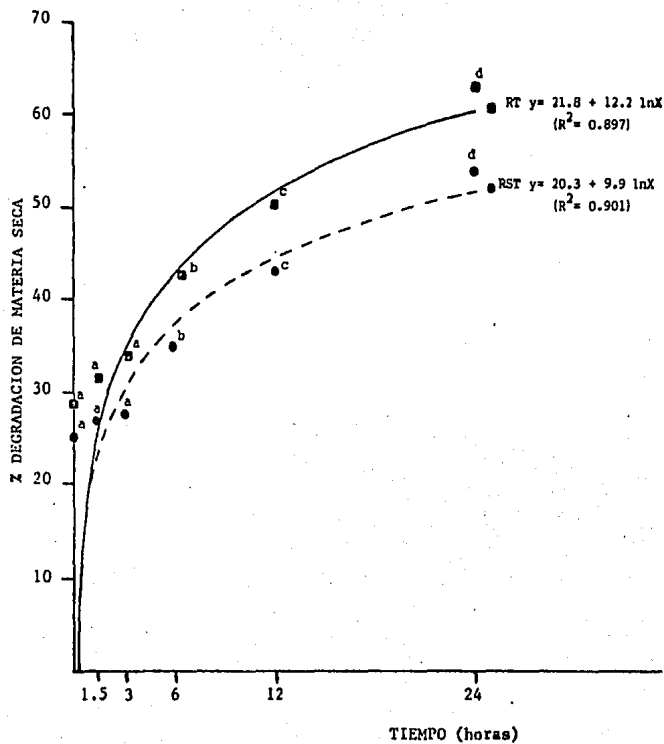
En la Gráfica 1, se muestra la cinética de degradación de materia seca in situ del rastrojo de maíz tratado y sin tratar con NH_3 , observándose incrementos significativos ($P < 0.05$) con la amoniatización durante todos los muestreos. La degradación de la materia seca empezó entre las 3 y 6 h en ambos rastrojos, intensificándose con respecto al tiempo de incubación. La tasa de degradación se vio incrementada con la amoniatización en un 24%, en cuanto a sus tiempos medios ($t_{1/2}$) (Cuadro IX), el rastrojo de maíz tratado mostró disminución significativa ($P < 0.05$) en un 7.6%.

CUADRO VIII

COMPOSICION QUIMICA Y DIGESTIBILIDAD DEL RASTROJO DE MAIZ TRATADO
Y SIN TRATAR CON NH₃

	R A S T R O J O D E M A I Z	
	SIN TRATAR	TRATADO
COMPOSICION QUIMICA, (% B.S.)		
MATERIA SECA	91.8 ± 0.7	87.5 ± 0.7
PROTEINA CRUDA (N X 5.7)	5.5 ± 0.1 ^a	12.8 ± 0.2 ^b
NITROGENO AMONIACAL	0.09 ^u	0.37 ^b
CENIZAS	8.4 ± 0.1	8.6 ± 0.1
PAREDES CELULARES	78.5 ± 1.0 ^a	63.1 ± 1.2 ^b
FIBRA DETERGENTE ACIDO	47.8 ± 1.2	43.8 ± 0.5
HENICELULOSA	30.7 ± 1.0 ^a	19.3 ± 0.8 ^b
CELULOSA	36.4 ± 2.5	33.7 ± 0.9
LIGNINA	9.6 ± 2.2	9.0 ± 1.8
DIGESTIBILIDAD (%)		
MATERIA SECA:		
<u>in situ</u> (24 h)	55.6 ± 4.1 ^a	65.6 ± 5.4 ^b
<u>in vitro</u> (48 h)	56.4 ± 3.4 ^a	66.6 ± 1.0 ^b
NITROGENO:		
<u>in situ</u> (24 h)	68.2 ± 3.1 ^a	85.8 ± 2.0 ^b
PAREDES CELULARES:		
<u>in situ</u> (24 h)	56.3 ± 3.9 ^a	65.6 ± 7.2 ^b

a, b. Para cada tratamiento, media con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05).



Gráfica 1. Cinética de degradación in situ de materia seca del rastrojo de maíz tratado (RT) y sin tratar (RST) con NH_3 .

a,b,c,d: Para cada curva (rastrojo), medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P \neq 0.05$)

La cinética de degradación del nitrógeno (Cuadro X) y de paredes celulares in situ (Gráfica 2) registraron diferencias significativas ($P < 0.05$) con el tratamiento con NH_3 durante todo el tiempo de incubación. Es importante hacer notar que el tratamiento químico incrementó la solubilidad del nitrógeno en un 23%, mejorándose la tasa de degradación en un 216%. En lo que se refiere a la degradación de paredes celulares, se detectaron aumentos significativos ($P < 0.05$) a las 6, 12 y 24 h de incubación, al igual que en el $t_{1/2}$ de degradación. La tasa de digestión se favoreció en un 21% con la aplicación de NH_3 .

VI.2. CARACTERISTICAS QUIMICAS, CONSUMO Y DIGESTIBILIDAD DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

La composición química de las dietas experimentales se indica en el Cuadro XI. En éste se observaron incrementos significativos ($P < 0.05$) con la amoniatización en el contenido de proteína cruda y decrementos en el de paredes celulares y hemicelulosas.

En lo relativo al consumo voluntario, éste se encuentra indicado en el Cuadro XII, donde se aprecia que el consumo de materia seca no presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las 4 dietas experimentales; sin embargo, el consumo de materia seca aparentemente digestible mostró una tendencia a incrementarse en las dietas conteniendo NH_3 y/o urea. El consumo de proteína cruda y aparentemente digestible, se vio aumentado significativamente ($P < 0.05$) con la amoniatización, incrementándose aún más con la adición de urea.

El nitrógeno fecal tendió a incrementarse en las dietas con NH_3 y/o urea, aunque solamente la dieta RTU tuvo diferencias significativas ($P < 0.05$).

CUADRO IX
TIEMPOS MEDIOS ($t_{1/2}$) DE DEGRADACION EN RUMEN PARA
RASTROJO DE MAIZ TRATADO Y SIN TRATAR CON NH_3

TIEMPO MEDIO DE DEGRADACION (h)	RASTROJO DE MAIZ	
	SIN TRATAR	TRATADO
MATERIA SECA	22.3 ± 3.7	20.7 ± 2.9
NITROGENO	>>> 244.3 ^a	244.3 ^b
PAREDES CELULARES	26.2 ± 5.0	26.6 ± 7.8

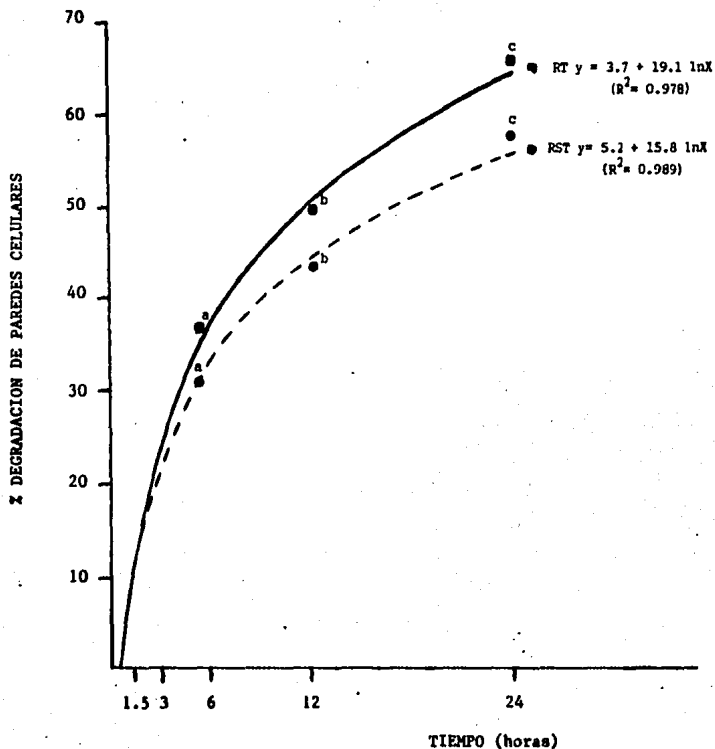
a,b. Para cada tratamiento, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

CUADRO X
CINETICA DE DIGESTIBILIDAD DE NITROGENO in situ DEL
RASTROJO DE MAIZ TRATADO Y SIN TRATAR CON NH_3

HORA (X)	RASTROJO DE MAIZ	
	SIN TRATAR	TRATADO
0	65.7 ± 2.4 ^{aA}	80.9 ± 0.4 ^{bA}
6	67.3 ± 0.7 ^{aA}	80.2 ± 1.7 ^{bA}
12	63.7 ± 3.7 ^{aA}	83.6 ± 0.8 ^{bB}
24	68.2 ± 3.1 ^{aA}	85.8 ± 2.0 ^{bC}
ECUACION DE PREDICCION	$Y = 0.08X + 65.4$ ($R^2 = 0.159$)	$Y = 0.24X + 80.1$ ($R^2 = 0.865$)

a,b. Para cada tratamiento, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

A,B,-C. Para cada hora, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)



Gráfica 2. Cinética de degradación in situ de paredes celulares del rastrojo de maíz tratado (RT) y sin tratar (RST) con NH_3 .

a,b,c: Para cada curva (rastrojo), medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

CUADRO XI

COMPOSICION QUIMICA DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

N U T R I M E N T O	D	I	E	T	A	S ¹
	RST	RSTU	RT	RTU		
MATERIA SECA, %	91.9 ± 0.8	92.1 ± 0.4	92.2 ± 0.6	92.1 ± 0.6		
PROTEINA CRUDA, %	11.3 ± 0.9 ^a	12.1 ± 0.2 ^a	14.5 ± 0.4 ^b	16.1 ± 1.5 ^b		
EXTRACTO ETHERO, %	2.2 ± 0.5	2.5 ± 0.2	2.4 ± 0.4	2.4 ± 0.6		
FIBRA CRUDA, %	25.7 ± 2.0	24.5 ± 0.5	24.2 ± 1.0	22.3 ± 1.2		
CENIZAS, %	8.1 ± 0.8 ^a	8.3 ± 0.9 ^a	11.7 ± 1.7 ^b	11.0 ± 1.2 ^b		
E.L.N., %	55.1 ± 0.4	55.8 ± 1.6	49.7 ± 0.7	50.7 ± 0.9		
PAREDES CELULARES, %	63.0 ± 3.8 ^a	61.4 ± 3.4 ^a	58.3 ± 2.7 ^b	57.4 ± 1.2 ^b		
F.D.A., %	31.2 ± 0.2	30.4 ± 0.7	33.6 ± 0.2	30.9 ± 0.1		
HEMICELULOSA, %	31.8 ± 2.4	31.0 ± 2.0	24.8 ± 1.5	27.0 ± 0.8		
CELULOSA, %	21.7 ± 0.4	21.3 ± 0.3	22.4 ± 0.9	19.2 ± 0.3		
LIGNINA, %	6.6 ± 0.1	6.0 ± 0.1	5.5 ± 0.0	4.6 ± 0.1		

a,b. Para cada tratamiento, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

-- Componentes principales: Rastrojo sin tratar (RST), Rastrojo sin tratar + urea (RSTU), Rastrojo tratado con NH_3 (RT) y Rastrojo tratado con NH_3 + urea (RTU).

CUADRO XII
 CONSUMO DE NUTRIMENTOS Y EXCRECION FECAL DE NITROGENO EN OVINOS
 ALIMENTADOS CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES

P A R A M E T R O	D	I	E	T	A	S ¹
	RST	RSTU	RTU	RT	RTU	RTU
CONSUMOS (g/día):						
ALIMENTO HUMEDO	1117.1 ± 17.4	1167.2 ± 27.9	1136.9 ± 21.10	1205.0 ± 24.0		
MATERIA SECA	1024.9 ± 16.3	1072.5 ± 25.8	1047.2 ± 19.4	1109.8 ± 22.3		
MATERIA SECA DIGESTIBLE	530.0 ± 12.0	650.0 ± 18.0	640.0 ± 11.0	700.0 ± 17.0		
PROTEINA CRUDA	113.6 ± 22.1 ^a	128.8 ± 32.2 ^{ac}	150.3 ± 29.8 ^{bc}	180.7 ± 42.9 ^b		
PROTEINA CRUDA DIGESTIBLE	65.4 ± 15.3 ^a	75.7 ± 19.7 ^a	89.3 ± 21.9 ^b	111.3 ± 27.1 ^c		
NITROGENO FECAL (g/día):	7.2 ± 1.5 ^a	8.4 ± 2.4 ^{ab}	10.5 ± 2.3 ^{ab}	10.8 ± 3.2 ^b		

a.b.c. Para cada tratamiento, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes (P<0.05).

1. Componentes principales: Rastrojo sin tratar (RST), Rastrojo sin tratar + urea (RSTU)
 Rastrojo tratado con NH₃ (RT) y Rastrojo tratado con NH₃
 + urea (RTU).

La digestibilidad de la materia seca in vivo (DMSIVV) e in situ (DMSIS) no presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las dietas experimentales (Cuadro XIII); mientras que la digestibilidad in vitro (DMSIVT) se mejoró significativamente ($P < 0.05$) por la amoniatización. Por otro lado, al realizar la comparación entre los valores de los tres métodos de digestibilidad, se observó que la digestibilidad in vivo difería de la de in vitro cuando se incluía urea en las dietas conteniendo rastrojo amoniatizado y de la de in situ cuando se adicionaba NH_3 ó NH_3 + urea.

La relación existente entre los tres tipos de digestibilidad se evaluó mediante las siguientes regresiones lineales:

- a) $\text{DMSIVV} = 0.2206 \text{ DMSIS} + 47.028 \quad (R^2 = 0.2674)$
- b) $\text{DMSIVV} = 0.1797 \text{ DMSIVT} + 49.175 \quad (R^2 = 0.979)$
- c) $\text{DMSIVT} = 1.085 \text{ DMSIS} - 2.57 \quad (R^2 = 0.995)$

La digestibilidad de nitrógeno in situ (DNIS) e in vivo (DNIVV) no presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las 4 dietas experimentales; no obstante se observó una tendencia a incrementarse con la adición de rastrojo amoniatizado. Los valores obtenidos de los dos tipos de digestibilidad para cada dieta, mostraron diferencias muy marcadas, teniendo una correlación que está dada por la siguiente ecuación:

$$\text{DNIVV} = 0.669 \text{ DNIS} + 5.0983 \quad (R^2 = 0.5993)$$

Donde se observa que la digestibilidad in vivo es significativamente ($P < 0.05$) menor que la de in situ.

En cuanto a la digestibilidad de las paredes celulares, FDA y hemicelulosa in situ e in vivo, no se detectaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las dietas.

CUADRO XIII

DIGESTIBILIDAD DE MATERIA SECA, NITROGENO Y FRACCIONES DE FIBRA
DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

DIGESTIBILIDADES	D	I	E	T.	A	S ¹
	RST	RSTU	RT	RTU	RTU	RTU
MATERIA SECA, %						
<u>in vivo</u>	61.3 ± 3.5 ^A	60.6 ± 5.4 ^A	61.8 ± 7.6 ^A	62.7 ± 3.8 ^A		
<u>in vitro</u>	67.2 ± 3.2 ^{abA}	63.2 ± 1.0 ^{AB}	71.0 ± 3.3 ^{bca}	74.7 ± 3.0 ^{cb}		
<u>in situ</u>	63.2 ± 4.4 ^A	66.4 ± 4.4 ^B	66.1 ± 8.0 ^A	68.3 ± 1.8 ^B		
NITROGENO, %						
<u>in vivo</u>	57.4 ± 3.7 ^A	59.3 ± 5.5 ^A	59.6 ± 2.4 ^A	62.0 ± 6.0 ^A		
<u>in situ</u>	79.3 ± 3.0 ^B	80.0 ± 3.1 ^B	83.4 ± 2.4 ^B	83.0 ± 3.4 ^B		
FRACCIONES DE FIBRA, %						
Paredes celulares						
<u>in situ</u>	52.7 ± 6.3	56.5 ± 5.3	54.0 ± 10.5	55.4 ± 3.2		
<u>in vivo</u>	53.8 ± 20.8	53.9 ± 20.7	48.8 ± 19.3	53.8 ± 20.8		
F.D.A., %						
<u>in situ</u>	30.8 ± 6.6	35.9 ± 8.2	37.7 ± 11.1	44.5 ± 8.5		
<u>in vivo</u>	43.3 ± 5.5	45.9 ± 8.4	45.7 ± 2.4	44.2 ± 5.3		
HEMICELULOSA, %						
<u>in situ</u>	74.2 ± 6.1	76.7 ± 3.1	74.6 ± 2.8	72.0 ± 4.9		
<u>in vivo</u>	83.9 ± 3.5	77.9 ± 6.7	76.7 ± 1.1	77.1 ± 2.9		
CELULOSA, %						
<u>in vivo</u>	48.2 ± 3.5	77.9 ± 12.0	50.0 ± 16.9	48.7 ± 9.2		

a,b,c. Para cada tratamiento, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

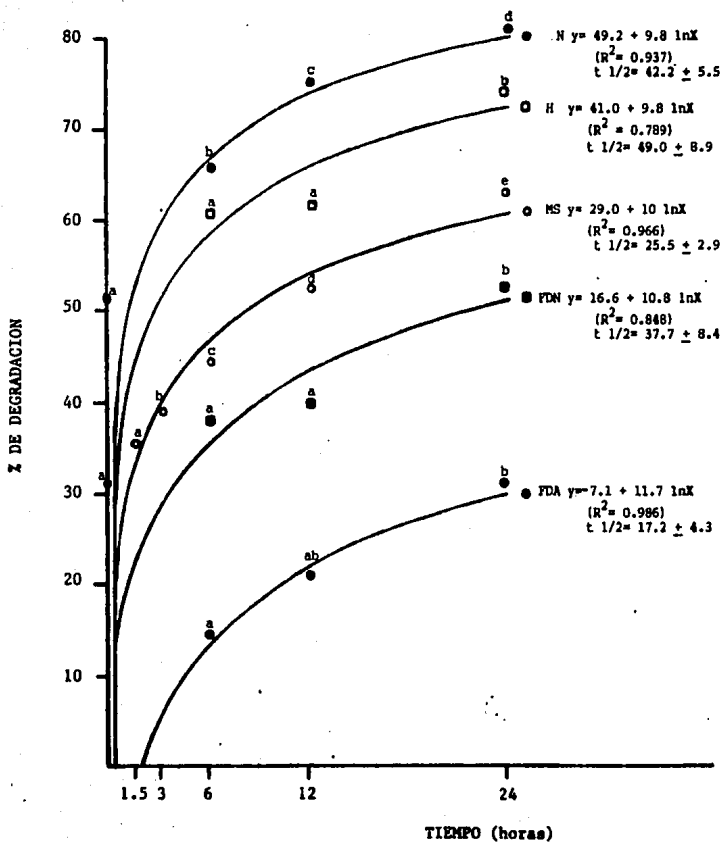
A,B. Para cada tipo de digestibilidad, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05).

- Componentes principales: Rastrojo sin tratar (RST), Rastrojo sin tratar + urea (RSTU)
Rastrojo tratado con NH₃ (RT) y Rastrojo tratado con NH₃ + urea (RTU).

Las cinéticas y los tiempos medios de degradación de materia seca, paredes celulares, FDA y hemicelulosa in situ de las dietas experimentales (Gráficas 3,4,5 y 6) no presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre ellas en ninguna de las horas de incubación; sin embargo, en la digestibilidad de nitrógeno, sí se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en cuanto al contenido de nitrógeno soluble, incrementándose en un 36% con el tratamiento con NH_3 y la adición de urea.

La velocidad de degradación de la materia seca fue constante en las cuatro dietas, iniciándose la degradación entre las 0 y 6 h de incubación; la de nitrógeno fue ligeramente mayor en la dieta con rastrojo amoniatizado y menores en las dietas conteniendo urea, sin embargo, la digestibilidad se inicia a la 1.5 h en las dietas conteniendo una fuente de nitrógeno no proteínico y a las 3 h en la dieta que no la contiene. Por otro lado, la velocidad de degradación de paredes celulares y hemicelulosa presentó incrementos con la amoniatización y decrementos con la adición de NH_3 + urea, iniciándose la digestión de paredes celulares en la dieta RST y RTU a las 24 h, en la RT a las 12 h y en la RSTU no cambió durante las horas de muestreo. La digestibilidad de la hemicelulosa se inició a las 24 h en las dietas no tratadas y a las 12 h en las amoniatizadas. Así mismo, la velocidad de degradación de la FDA mostró aumentos con la adición de nitrógeno no proteínico, pero con mayor efecto con NH_3 + urea, iniciándose la degradación a las 12 h en las dietas RST y RTU y en las dietas RSTU y RT no se presentaron cambios durante las horas de muestreo.

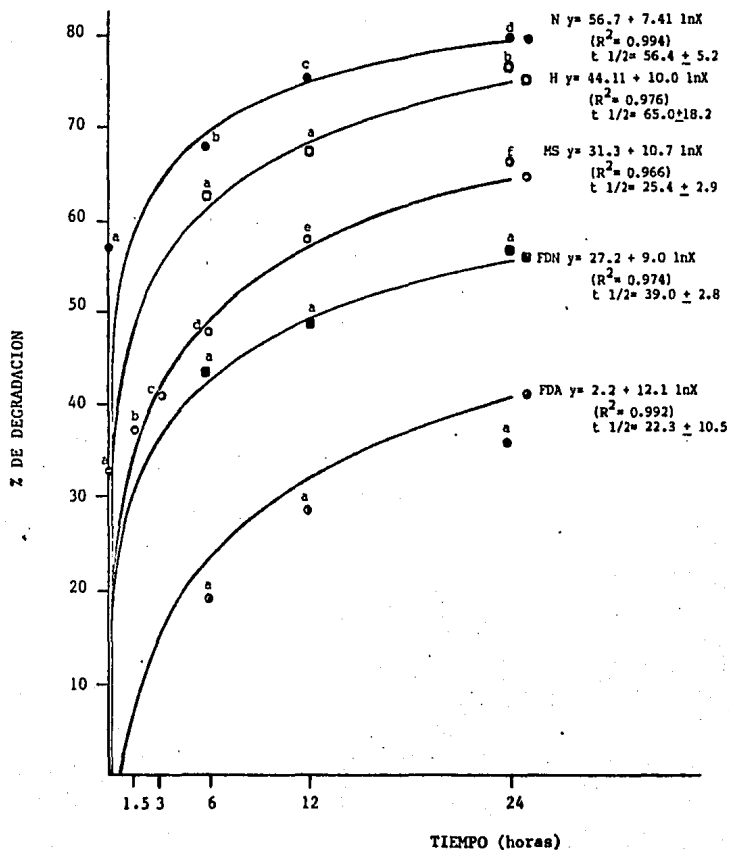
Al realizar la relación existente entre digestibilidades de materia seca y producción de AGV's, se encontraron las siguientes ecuaciones:



Gráfica 3. Cinética de degradación de nitrógeno (N), hemicelulosa (H), materia seca (MS), FDN y FDA en la dieta RST.

a,b,c,d,e: Para cada curva, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

1: Dieta conteniendo rastrojo de maíz sin tratar.

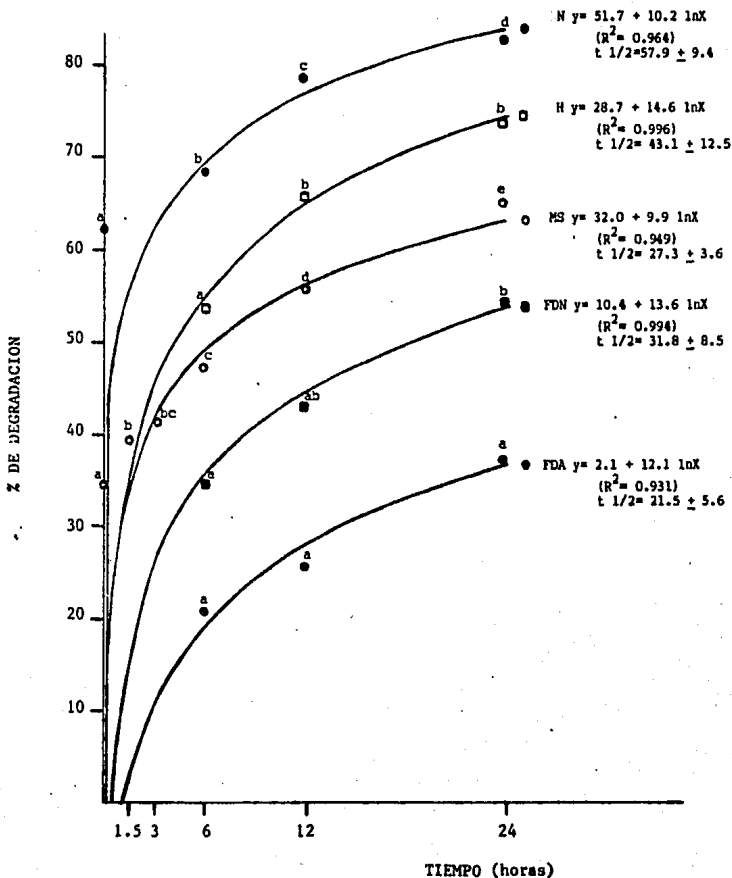


Gráfica 4. Cinética de degradación de nitrógeno (N), hemicelulosa (H) y materia seca (MS), FDN y FDA de la dieta RSTU.

a, b, c, d, e,

f: Para cada curva, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

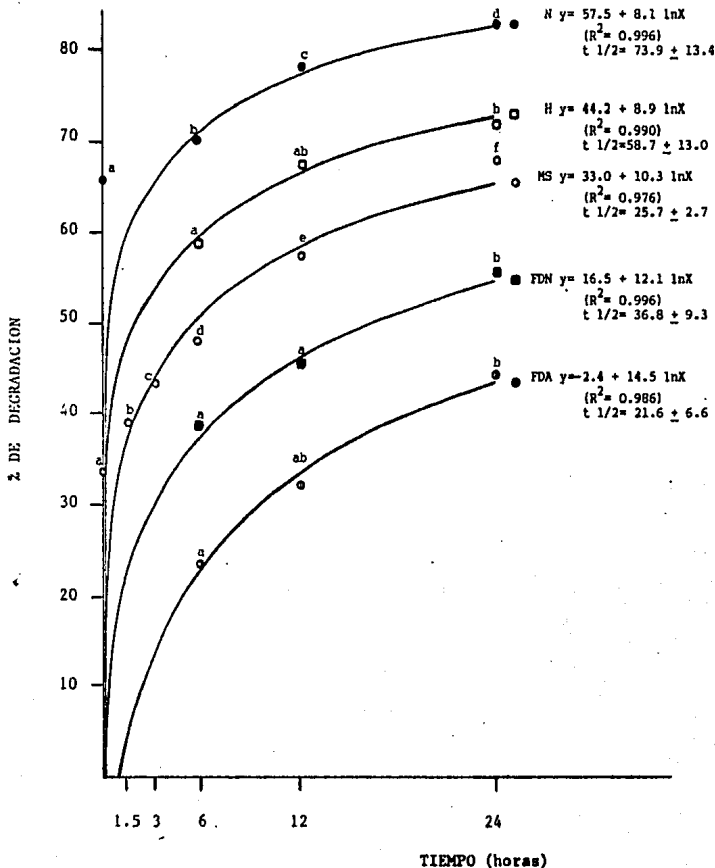
1: Dieta conteniendo rastrojo de maíz sin tratar + urea.



Gráfica 5. Cinética de degradación de nitrógeno (N), hemicelulosa (H), materia seca (MS), FDN y FDA de la dieta RT¹.

a,b,c,d,e: Para cada curva, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

1: Dieta conteniendo rastrojo de maíz tratado con NH_3 .



Gráfica 6. Cinética de degradación de nitrógeno (N), hemicelulosa (H), materia seca (MS), FDN y FDA de la dieta RTU¹.

a, b, c, d, e,

f: Para cada curva, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

1: Dieta conteniendo rastrojo de maíz tratado con NH_3 + urea.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Dieta RST	P.AGV's = - 15.97 + 5.97 ln DMS	(R ² = 0.935)
Dieta RSTU	P.AGV's = - 17.73 + 6.65 ln DMS	(R ² = 0.868)
Dieta RT	P.AGV's = - 20.12 + 7.29 ln DMS	(R ² = 0.805)
Dieta RTU	P.AGV's = - 25.06 + 8.51 ln DMS	(R ² = 0.924)

Donde:

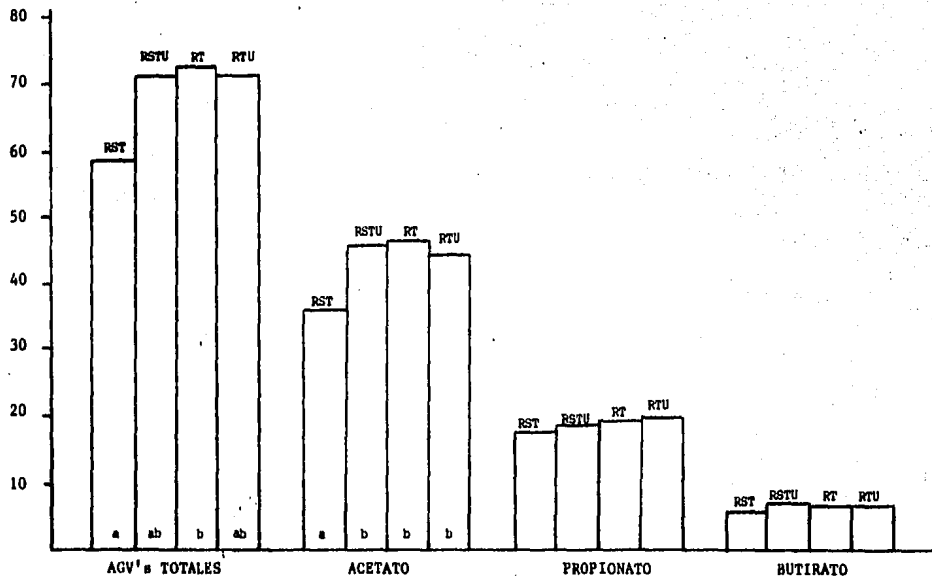
P.AGV's = Producción de AGV's (mM/100 ml)

DMS = Digestibilidad de materia seca

VI.3. FERMENTACION RUMINAL EN OVINOS

En la Gráfica 7 se observa que la producción promedio de ácidos grasos volátiles totales (AGV's totales) se incrementó significativamente ($P < 0.05$) con la amoniatización, aunque la adición de una fuente de nitrógeno no proteínico, ya sea urea o NH_3 tendió a elevar la producción en un 23%. Del mismo modo, la producción promedio de ácido acético, se vio estimulada significativamente ($P < 0.05$) en un 30% por la presencia de nitrógeno no proteínico, percibiéndose una interacción inhibitoria entre NH_3 y urea. La producción promedio de ácido propiónico no presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las dietas; sin embargo, con la amoniatización tendió a incrementarse en un 9%, mientras que con la urea solamente en un 5.6%; también se detectó una interacción, pero en éste caso fue positiva, ya que incrementó su producción en un 12.4%. La producción de butirato sufrió un mayor incremento aunque no significativo ($P < 0.05$) con la adición de urea (26.7%), mientras que con el NH_3 se elevó en un 19.6%, existiendo una pequeña interacción inhibitoria con NH_3 y urea.

Las proporciones obtenidas de los AGV's se encuentran indicados en el Cuadro XIV, donde se puede apreciar que no hubo diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las dietas, en tanto que la relación acetato/propionato sí presentó cambios significativos ($P < 0.05$), incrementándose con la presencia de nitrógeno no proteínico, teniendo un mayor efecto la urea.



Gráfica 7. Producción promedio de AGV's en rumen de ovinos alimentados con las dietas experimentales

a, b: Para cada parámetro, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

CUADRO XIV

PROPORCIONES DE AGV's Y RELACION ACETATO/PROPIONATO EN RUMEN DE OVINOS ALIMENTADOS CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES

P R O P O R C I O N E S (moles/100 moles)	D	I	E	T	A	S ¹
	RST	RSTU	RT	RTU		
ACIDO ACETICO	61.0±2.6	63.0±2.2	64.3±1.8	62.8±2.3		
ACIDO PROPIONICO	30.0±3.0	26.5±1.9	26.5±1.8	27.9±2.7		
ACIDO BUTIRICO	9.0±1.4	10.5±0.6	9.2±1.0	9.3±1.0		
ACETICO/PROPIONICO	2.0±0.3 ^a	2.6±0.3 ^b	2.4±0.3 ^b	2.3±0.3 ^{ab}		

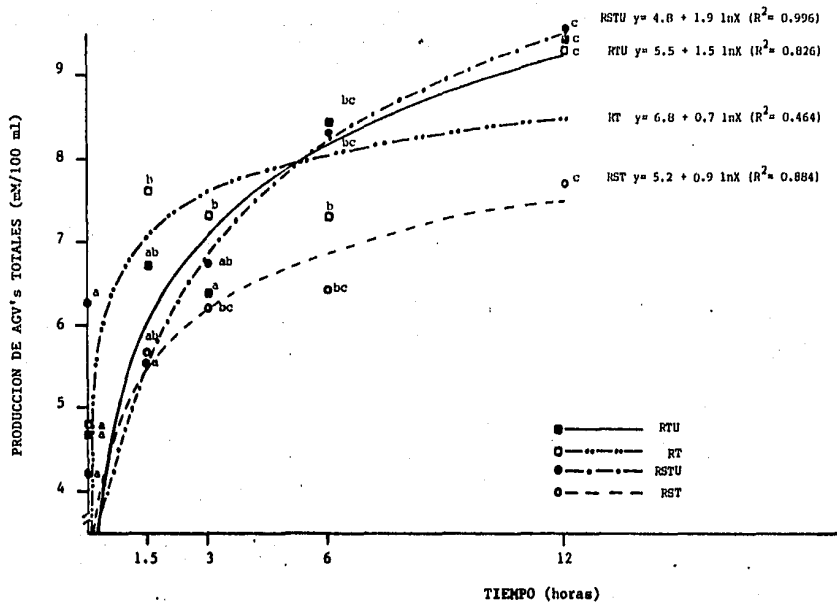
a,b. Para cada tratamiento, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

1. Componentes principales: Rastrojo sin tratar (RST), Rastrojo sin tratar + urea (RSTU), Rastrojo tratado con NH_3 (RT) y Rastrojo tratado con NH_3 + urea (RTU).

Las cinéticas de producción de AGV's totales (Gráfica 8) y ácido acético (Gráfica 9), se comportaron similarmente bajo el patrón de cinética de primer orden, observándose incrementos en la velocidad de producción con la adición de urea, presentándose una interacción negativa entre NH_3 y urea. En el caso de las dietas RT y RST, las velocidades de producción correspondieron aproximadamente a la mitad de las obtenidas en RTU y RSTU respectivamente, siendo mayor la de RSTU. A la hora cero, la RSTU presentó los mejores niveles con respecto a las demás dietas, pero a las 1.5 h la RT la superó, a las 3 h no existieron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las dietas, pero a las 6 h se encontró que la adición de una fuente de nitrógeno no proteínico, principalmente urea, mejoraba la producción y finalmente las concentraciones a las 12 h fueron iguales. La máxima producción de AGV's totales y de ácido acético en las 4 dietas fueron a las 3, 6, 1.5 y 6 h para las dietas RST, RSTU, RT y RTU respectivamente.

La producción de ácido propiónico (Gráfica 10) tendió a presentar una cinética de primer orden. A la hora cero la urea incrementó ligeramente su producción, a las 1.5, 3 y 12 h no existieron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las dietas; sin embargo, a las 6 h la adición de nitrógeno no proteínico principalmente urea, elevó la producción significativamente ($P < 0.05$). La adición de urea aumentó la producción y la velocidad de formación, presentando interacción inhibitoria con el NH_3 . La velocidad de producción de RST y RT fueron iguales, aunque también presentaron la mitad de la velocidad de las dietas con urea. La máxima producción de propionato fue a las 6 h para todas las dietas.

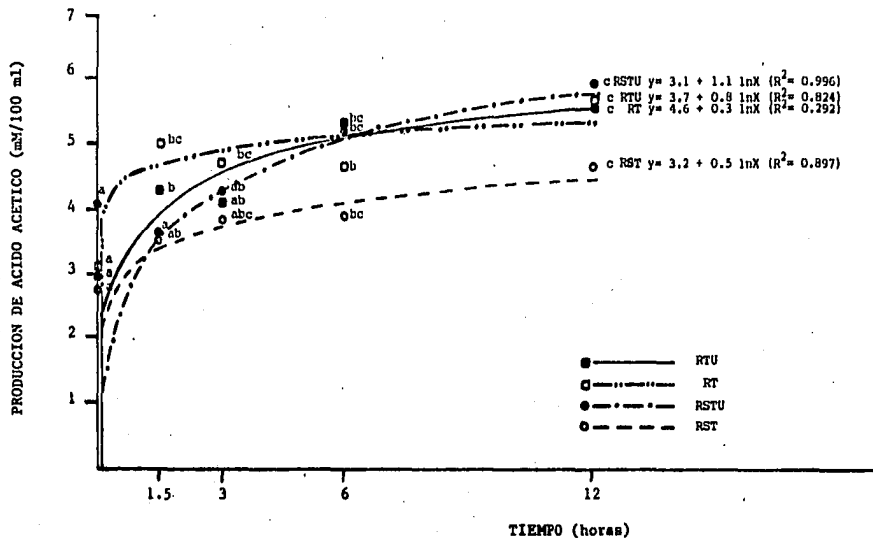
La producción de butirato también presentó cinética de primer orden (Gráfica 11), no mostrando diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las dietas en ninguna de las horas. Su produc-



Gráfica 8. Cinética de producción de AGV's totales en rumen de ovinos alimentados con las dietas experimentales¹.

a,b,c: Para cada curva, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

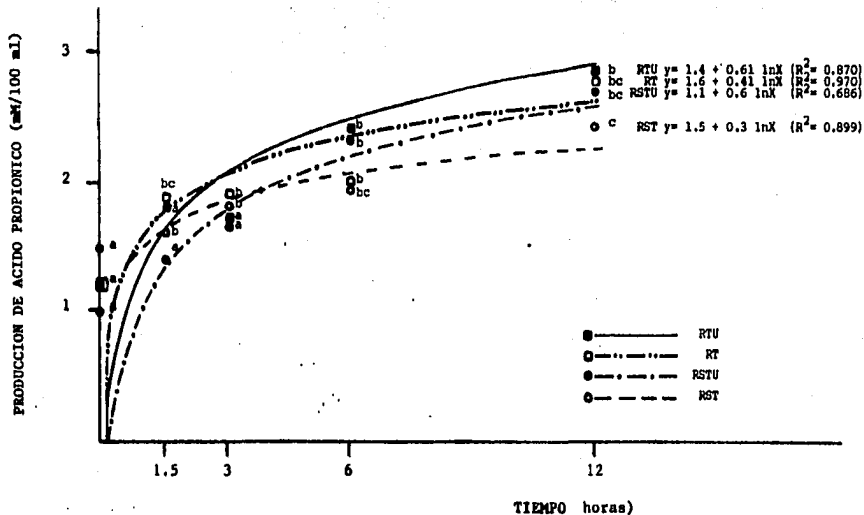
1: Entre tratamientos no se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$)



Gráfica 9. Cinética de producción de ácido acético en rumen de ovinos alimentados con las dietas experimentales¹.

a,b,c: Para cada curva, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

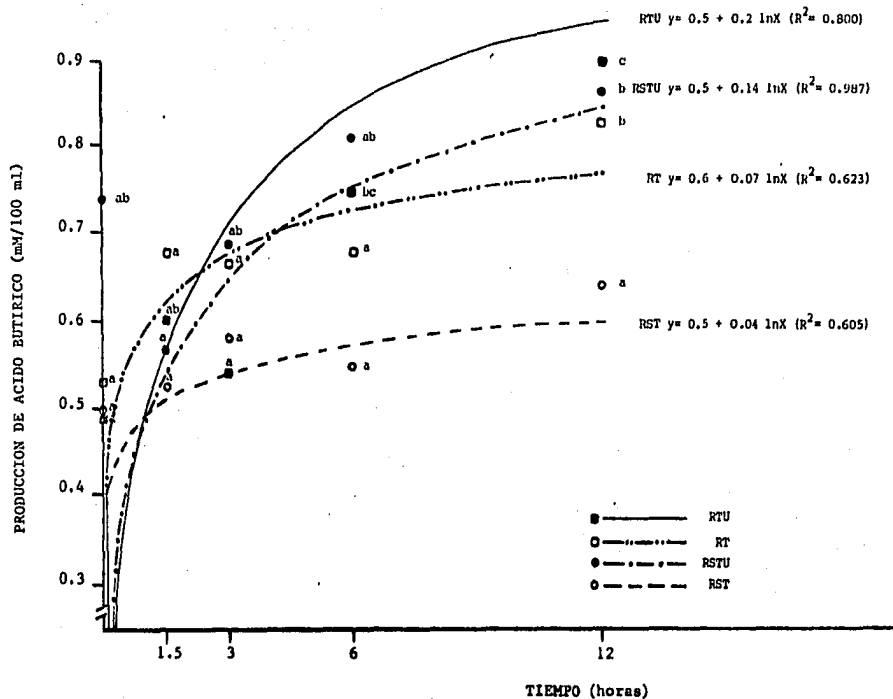
1: Entre tratamientos no se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$)



Gráfica 10. Cinética de producción de ácido propiónico en rumen de ovinos alimentados con las dietas experimentales¹.

a,b,c: Para cada curva, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

1: Entre tratamientos no se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$).



Gráfica 11. Cinética de producción ruminal de ácido butírico en ovinos alimentados con las dietas experimentales 1.

a,b,c: Para cada curva, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

1: Entre tratamientos no se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$)

ción se vió ligeramente incrementada por la presencia de nitrógeno no proteínico, sin embargo, las velocidades de producción siguen el mismo patrón encontrado en los demás ácidos grasos volátiles, que en este caso la velocidad de producción de la dieta RT fue mayor a la de RST. La máxima producción para las dietas RT y RTU fue a las 12 y 6 h respectivamente, en tanto que la producción de las dietas RST y RSTU fueron constantes durante la incubación.

En lo relativo al pH (Cuadro XV) se puede observar que es inversamente proporcional a la producción de AGV's, encontrándose diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las dietas a las cero horas, producidas por la adición de urea en la dieta no amoniatazada. A las 3 h la dieta RTU presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) con todas las demás dietas. La velocidad de cambio del pH también presentó cinética de primer orden, incrementándose con la presencia de urea, iniciando su decremento a las 6 h y finalizándolo a las 12 h en las dietas sin urea; se inició el descenso a las 1.5 h en la dieta RST y a las 3 en la RT, finalizándolo a las 6 y 12 h respectivamente. El pH promedio no presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) con la amoniatazación ni con la adición de urea.

Los cálculos de producción de CO_2 y metano fueron obtenidos a partir de ecuaciones en donde se involucraban las proporciones de AGV's y sus valores de oxidación (148):

$$\text{CO}_2 = \text{Ma}/2 + \text{Mp}/4 + 3\text{Mb}/2$$

$$\text{CH}_4 = \text{Ma} + 2\text{Mb} - \text{CO}_2$$

Donde:

Ma = Proporción molar de acetato

Mp = Proporción molar de propionato

Mb = Proporción molar de butirato

CUADRO XV
 CINETICA DE pH RUMINAL EN OVINOS ALIMENTADOS CON
 LAS DIETAS EXPERIMENTALES

HORA (X)	D	I	E	T	A	S ¹
	RST	RSTU	RT	RTU		
0	6.8 ± 0.3 ^{nA}	6.6 ± 0.2 ^{bA}	6.8 ± 0.1 ^{abA}	6.8 ± 0.2 ^{abA}		
1.5	6.5 ± 0.2 ^B	6.6 ± 0.2 ^A	6.6 ± 0.2 ^{AB}	6.6 ± 0.2 ^A		
3	6.4 ± 0.2 ^{BC}	6.4 ± 0.2 ^A	6.4 ± 0.2 ^{BC}	6.5 ± 0.2 ^A		
6	6.1 ± 0.2 ^{CD}	6.1 ± 0.2 ^B	6.2 ± 0.2 ^C	6.2 ± 0.3 ^B		
12	5.9 ± 0.1 ^D	5.9 ± 0.2 ^C	5.9 ± 0.1 ^D	5.9 ± 0.2 ^C		
24	6.8 ± 0.2 ^A	6.7 ± 0.2 ^A	6.8 ± 0.1 ^A	6.8 ± 0.1 ^A		
pH PROMEDIO	6.41 ± 0.32	6.49 ± 0.32	6.4 ± 0.31	6.5 ± 0.34		
ECUACIONES DE PREDICCION	Y=6.6-0.3 lnX R ² =0.990	Y=6.8-0.4 lnX R ² =0.982	Y=6.7-0.3 lnX R ² =0.976	Y=6.8-0.4 lnX R ² =0.953		

a,b. Para cada tratamiento, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

A,B,C,D. Para cada hora, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

1. Componentes principales: Rastrojo sin tratar (RST), Rastrojo sin tratar + urea (RSTU), Rastrojo tratado con NH₃ (RT) y Rastrojo tratado con NH₃ + urea (RTU).

La producción estimada de CO_2 (Cuadro XVI) no presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las dietas, pero en cambio, la producción de metano sí se vio afectada por la adición de NH_3 . La producción estimada de ATP fue realizada a partir de los moles de AGV's producidos, tomándose que por cada mol de acetato, propionato, butirato y metano se producen 4, 4, 3 y 1 moles de ATP respectivamente; observándose que la adición de nitrógeno no proteínico incrementaba su producción significativamente ($P < 0.05$), no obstante se observó una interacción inhibitoria entre NH_3 y urea.

En forma similar se obtuvieron los resultados estimados del rendimiento celular (mg de células/100 ml), que se obtuvo multiplicando la producción de ATP por 10.5 que es el Y_{ATP} promedio. El rendimiento celular tuvo un comportamiento muy similar al observado en la producción de ATP, incrementando su producción por la adición de nitrógeno no proteínico. Sin embargo, cuando se reporta como g de células/digesta ruminal total, solamente se detectaron incrementos con la adición de urea y ligeras disminuciones significativas ($P < 0.05$) con la amoniatización.

VI.4. METABOLISMO NITROGENADO EN OVINOS

La producción de NH_3 (Gráfica 12) se incrementó en las dietas amoniatizadas en todas las horas de muestreo, a excepción de la hora cero. Las tasas de producción de las dietas con nitrógeno no proteínico fueron mayores que las dietas que no lo contenían, siendo aún mayores con el NH_3 que con la urea. En la dieta RST la producción fue constante a través del tiempo; en RSTU, RT y RTU se alcanzó la máxima producción a la 1.5 h.

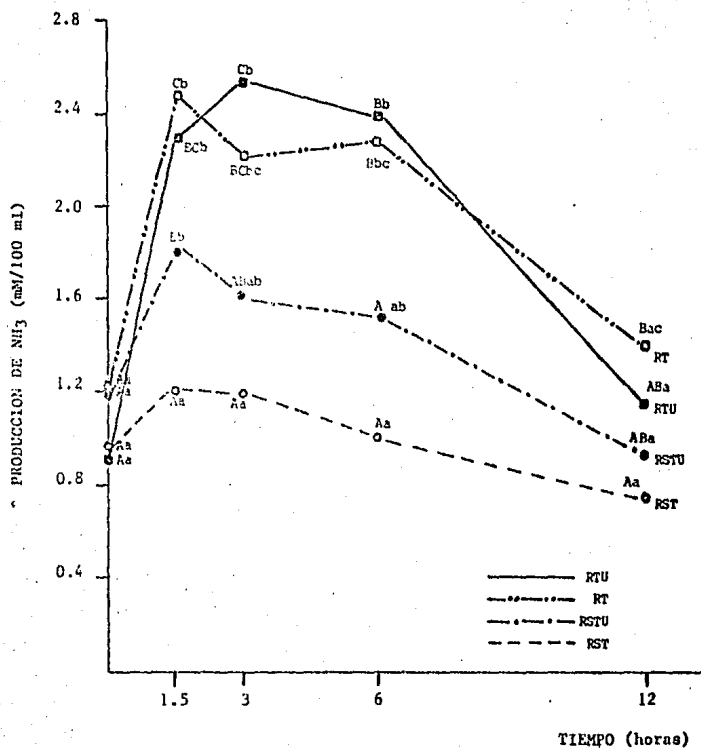
CUADRO XVI

ESTIMACION DE PRODUCCION RUMINAL DE CO₂, CH₄, ATP Y RENDIMIENTO CELULAR EN OVINOS
ALIMENTADOS CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES

P A R A M E T R O S	D	I	E	T	A	S ¹
	RST	RSTU	RT	RTU		
PRODUCCION DE CO ₂ (mM/100 ml)(l)	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1		
PRODUCCION DE CH ₄ (mM/100 ml)(l)	0.3 ± 0.0 ^a	0.3 ± 0.1 ^{ab}	0.4 ± 0.1 ^b	0.3 ± 0.1 ^{ab}		
PRODUCCION DE ATP (mM/100 ml)(l)	23.5 ± 4.3 ^a	28.7 ± 4.1 ^b	28.2 ± 3.4 ^b	27.8 ± 3.1 ^{ab}		
RENDIMIENTO CELULAR (mg/100 ml)	247.7 ± 44.8 ^a	300.8 ± 43.5 ^b	295.7 ± 35.8 ^b	292.3 ± 32.6 ^{ab}		
(g/digesta ruminal/l total)	1.3 ± 0.2 ^a	1.9 ± 0.3 ^b	1.2 ± 0.2 ^c	1.4 ± 0.2 ^d		

a, b, c, d. Para cada tratamiento, las medias con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

1. Componentes principales: Rastrojo sin tratar (RST), Rastrojo sin tratar + urea (RSTU), Rastrojo tratado con NH₃ (RT) y Rastrojo tratado con NH₃ + urea (RTU).



Gráfica 12. Cinética de producción de N-NH_3 en rumen de ovinos alimentados con las dietas experimentales.

a,b,c: Para cada curva, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

A,B,C: Para cada tratamiento, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

Realizándose correlaciones entre la producción de NH_3 , digestibilidad y formación de productos de la fermentación ruminal, se encontraron resultados de suma importancia, los cuales se presentan en el Cuadro XVII. En cuanto a la digestibilidad, se observó que la concentración de NH_3 tuvo el mayor efecto en la de nitrógeno in situ, seguida de la digestibilidad de FDA y materia seca in situ y nitrógeno in vivo; las menores correlaciones fueron para la materia seca in vivo e in vitro. En relación a la concentración de NH_3 con los productos de fermentación ruminal, se observó la mayor correlación con la producción de ácido propiónico, seguida de la de acetato y AGV's totales y la que menor correlación presentó fue la producción de butirato.

Basándose en la producción de NH_3 , se realizaron los cálculos de:

A_m = Poza de N-NH_3 (mg N-NH_3 /Digesta ruminal total)

a_m = Tasa de incorporación de N-NH_3 dentro de microorganismos (mg N-NH_3 /Kg Digesta ruminal total/h).

K_{am} = Tasa de recambio de N-NH_3 = a_m/A_m (h^{-1})

$\text{N-Microbiano formado a partir de } \text{N-NH}_3$ = $a_m(\text{g}) \times 24(\text{h})$
 x peso total
 de la Digesta
 ruminal
 (Kg)

Rendimiento celular = $\text{N-microbiano} \times 100/10.5$

Se puede observar en el Cuadro XVIII que la poza de NH_3 (A_m) como mg/100 ml o g/Digesta ruminal total, se incrementa significativamente ($P < 0.05$) con la amoniatización, pero se deprime con la adición de urea y NH_3 . Por otro lado, a mayor consumo de nitrógeno (CN), mayor tamaño de la poza de NH_3 :

Poza de NH_3 = $9.35 (\text{CN}) - 0.9296$ ($R^2 = 0.5393$)

CUADRO XVII

CORRELACION ENTRE NH₃ RUMINAL, DIGESTIBILIDAD Y PRODUCTOS
DE FERMENTACION RUMINAL EN DIETAS EXPERIMENTALES

VARIABLES	REGRESION (R)	CORRELACION (R ²)
NH ₃ (X) vs DIGESTIBILIDAD		
(Y):		
MATERIA SECA		
<u>in situ</u>	0.832	0.692
<u>in vitro</u>	0.692	0.479
<u>in vivo</u>	0.624	0.389
NITROGENO		
<u>in situ</u>	0.967	0.935
<u>in vivo</u>	0.829	0.687
FDN		
<u>in situ</u>	0.853	0.728
<u>in vivo</u>	-0.984	0.968
FDA		
<u>in situ</u>	0.861	0.741
<u>in vivo</u>	0.657	0.432
HEMICELULOSA		
<u>in situ</u>	-0.390	0.152
<u>in vivo</u>	-0.907	0.823
CELULOSA		
<u>in vivo</u>	0.425	0.181
NH ₃ (X) vs PRODUCTOS DE LA FERMENTACION (Y)		
AGV's totales	0.860	0.739
Acido acético	0.841	0.707
Acido propiónico	0.951	0.904
Acido butírico	0.616	0.379

CUADRO XVIII

METABOLISMO NITROGENADO DE OVINOS ALIMENTADOS CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES

P A R A M E T R O	D	I	E	T	A	S ¹
	RST	RSTU	RT	RTU		
POZA DE N-NH ₃ (Am)						
(mg N-NH ₃ /100 ml)	1.05 ± 0.2 ^a	1.43 ± 0.4 ^{ac}	1.92 ± 0.6 ^b	1.90 ± 0.8 ^{bc}		
(mg N-NH ₃ /DRT ²)	144.4 ± 25.9 ^a	189.9 ± 30.4 ^{ac}	281.4 ± 55.3 ^b	238.4 ± 36.8 ^{bc}		
TASA DE INCORPORACION DE N-NH ₃ DENTRO DE MICROORGANISMOS (am) ³						
(mg N-NH ₃ /Kg DRT ² /h)	30.7 ± 2.8 ^a	35.2 ± 2.9 ^{ab}	37.7 ± 4.2 ^b	38.9 ± 2.0 ^b		
TASA DE RECAMBIO FRACCIONAL DE N-NH ₃ (Kam) ³						
(1/h)	0.22 ± 0.02 ^a	0.19 ± 0.02 ^b	0.16 ± 0.02 ^c	0.17 ± 0.02 ^{bc}		
N MICROBIANO FORMADO A PARTIR DE N-NH ₃ ³						
(g/dfa)	4.33 ± 1.1	6.04 ± 2.3	4.73 ± 2.0	5.05 ± 0.5		
RENDIMIENTO CELULAR ³						
(g/dfa)	41.2 ± 10.6	55.9 ± 22.2	42.2 ± 18.7	48.1 ± 4.5		

a,b,c. Para cada tratamiento, medias con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

- Componentes principales: Rastrojo sin tratar (RST), Rastrojo sin tratar + urea (RSTU), Rastrojo tratado con NH₃ (RT) y Rastrojo tratado con NH₃ + urea (RTU).
- DRT= Digesta ruminal total.
- Estimaciones hechas a partir de la poza de N-NH₃.

La tasa de incorporación de N-NH₃ dentro de microorganismos (am) se incrementó significativamente (P < 0.05) en mayor proporción, por el efecto del tratamiento con NH₃ que por la urea, existiendo interacción positiva entre NH₃ y urea. Además, se encontró una alta correlación entre el am y el consumo de nitrógeno (CN):

$$am = 0.709 (CN) + 19.37 \quad (R^2 = 0.8317)$$

La tasa de recambio de N-NH₃ (Kam), tendió a disminuir con la amoniatización, permaneciendo casi constante con la adición de urea. Entre el Kam y el am se observó una relación lineal inversa dada por la ecuación:

$$am = 61.109 - 140.05 Kam \quad (R^2 = 0.9467)$$

El Kam tendió a disminuir aparentemente con el incremento en el consumo de nitrógeno, aunque no presentó una correlación significativa; por otro lado, existe una correlación importante entre la poza de NH₃ y la tasa de recambio de NH₃:

$$Am = 625.87 - 2265.908 Kam \quad (R^2 = 0.9421)$$

El N-microbiano aparentemente se incrementa con la adición de urea y no se ve afectado por la amoniatización; no existiendo relación con el consumo de nitrógeno.

El rendimiento celular se vio elevado aunque no significativamente (P < 0.05) con la presencia de urea; con el NH₃ no se observaron cambios significativos (P < 0.05), no presentó correlación con la poza de NH₃ ni con el consumo de nitrógeno.

VI.5. CINETICA DE SOLIDOS Y LIQUIDOS EN RUMEN

En el Cuadro XIX se muestra la cinética de líquidos y sólidos en el rumen de ovinos alimentados con las dietas incluyendo rastrojo de maíz tratado y sin tratar con NH₃, donde no se encontraron diferencias significativas (P < 0.05).

CUADRO XIX

CINETICA DE LIQUIDOS Y SOLIDOS EN RUMEN DE OVINOS ALIMENTADOS
CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES

P A R A M E T R O	D	I	E	T	A	S ¹
	RST	RSTU	RT	RTU		
VOLUMEN (Kg) (l)	0.5 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.2	
	5.4 ± 1.5	6.5 ± 2.7	4.4 ± 2.1	4.9 ± 0.5		
FLUJO/h (Kg/24h) (l/24h)	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	
	7.9 ± 2.4	8.4 ± 2.6	7.3 ± 3.2	7.8 ± 1.7		
TASA DE DILUCION (h ⁻¹)	Sólidos	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.2	1.0 ± 0.2	
	Líquidos	1.5 ± 0.4	1.5 ± 0.6	1.7 ± 0.3	1.6 ± 0.3	
TIEMPO DE RECAMBIO (h)	Sólidos	18.1 ± 3.4	19.5 ± 4.6	19.9 ± 5.1	17.1 ± 2.7	
	Líquidos	14.4 ± 6.3	13.5 ± 1.3	10.7 ± 2.3	11.5 ± 2.1	

1. Componentes principales: Rastrojo sin tratar (RST), Rastrojo sin tratar+urea (RSTU)
Rastrojo tratado con NH₃ (RT) y Rastrojo tratado con NH₃ +
urea (RTU).

La adición de urea mostró una tendencia aunque no significativa ($P < 0.05$) de incrementar en mayor proporción que en NH_3 , el volumen y tiempo de recambio de líquidos y sólidos, y disminuir la tasa de dilución de sólidos y líquidos.

Con el fin de obtener información acerca de la relación existente entre el volumen, flujo, tasa de dilución y tiempo de recambio de líquidos y sólidos con el consumo, digestibilidad, fermentación ruminal y metabolismo nitrogenado en rumen, se obtuvieron una serie de regresiones simples, que se presentan en el Cuadro XX.

VI.5.1. CONSUMO

El consumo se vio relacionado positivamente con el flujo de sólidos y negativamente con el tiempo de recambio de sólidos y líquidos.

VI.5.2. DIGESTIBILIDAD

El volumen de sólidos y líquidos correlacionó negativamente con la digestibilidad de materia seca in vivo y positivamente con la digestibilidad de paredes celulares y hemicelulosa in situ. Por otro lado, el volumen de líquidos también presentó una relación negativa con la digestibilidad de nitrógeno in situ.

El flujo de sólidos fue directamente proporcional a la digestibilidad de la materia seca, paredes celulares y FDA in situ; mientras que el flujo de líquidos fue inversamente proporcional a la digestibilidad de la materia seca in vivo y de nitrógeno in situ, pero directamente proporcional a la digestibilidad de las paredes celulares in situ.

CUADRO XX

CORRELACION ENTRE VOLUMEN (V), FLUJO (F), TASA DE DILUCION (D) Y TIEMPO DE
RECAMBIO (Tr) DE LIQUIDOS (L) Y SOLIDOS (S) Y DIGESTIBILIDAD, CONSUMO,
PRODUCTOS DE FERMENTACION RUMINAL Y METABOLISMO NITROGENADO EN RUMEN

VARIABLE Y	VARIABLE X	REGRESION (R)	CORRELACION (R ²)
CONSUMO (Y)			
MATERIA SECA	F _S	0.676	0.457
	ln Tr _S	-0.440	0.194
	Tr _L	-0.447	0.199
DIGESTIBILIDADES (Y)			
MATERIA SECA			
<u>in situ</u>	ln F _S	0.691	0.477
	Tr _L	0.697	0.486
<u>in vivo</u>	V _S	0.661	0.437
	D _S	0.907	0.823
	ln Tr _S	-0.663	0.439
	V _L	-0.760	0.578
	F _L	-0.622	0.387
	ln D _L	0.628	0.394
	Tr _L	-0.658	0.433
NITROGENO			
<u>in vitro</u>	ln V _L	-0.790	0.624
	ln F _L	-0.227	0.052
	D _L	0.843	0.711
	Tr _L	-0.994	0.988
PAREDES CELULARES			
<u>in situ</u>	ln V _S	0.821	0.674
	ln F _S	0.994	0.988
	ln F _L	0.565	0.319
FDA			
<u>in situ</u>	ln F _S	0.456	0.208
	D _S	0.478	0.228
	Tr _S	-0.426	0.181
HEMICELULOSA			
<u>in situ</u>	V _S	0.786	0.618
	D _S	-0.991	0.982
	ln Tr _S	0.832	0.692
	V _L	0.658	0.433

CONTINUACION CUADRO XX

VARIABLE Y	VARIABLE X	REGRESION (R)	CORRELACION (R ²)
METABOLISMO NITROGENADO EN RUMEN (Y)			
Poza de NH ₃ (Am)	V _L	-0.666	0.444
	F _L	-0.654	0.428
	D _L	0.812	0.659
	Tr _L	-0.980	0.960
Am	D _L	0.52	0.270
	Tr _L	-0.901	0.812
K _{nm}	V _L	0.547	0.299
	D _L	-0.675	0.456
	Tr _L	0.967	0.935
N-MICROBIANO FORMADO A PARTIR DE NH₃ (Y)			
	V _S	0.896	0.803
	F _S	0.958	0.918
	D _S	-0.534	0.285
	V _L	0.792	0.627
	F _L	0.820	0.672
	D _L	-0.670	0.449
RENDIMIENTO CELULAR			
	V _S	0.877	0.769
	F _S	0.965	0.931
	V _L	0.769	0.591
	F _L	0.811	0.658
	D _L	-0.654	0.428
PRODUCTOS DE FERMENTACION RUMINAL (Y)			
ACV's TOTALES	ln V _S	0.570	0.325
	ln F _S	0.720	0.518
	Tr _L	0.760	0.578
	V _S	0.657	0.432
	F _S	0.702	0.493
	ln D _S	-0.450	0.203
	Tr _S	0.580	0.336
	Tr _L	0.670	0.449

CONTINUACION CUADRO XX

VARIABLE Y	VARIABLE X	REGRESION (R)	CORRELACION (R ²)
ACIDO PROPIONICO	V _S	0.790	0.624
	F _S	0.770	0.593
	D _S	0.603	0.364
	D _L	-0.670	0.449
	Tr _L	0.506	0.256
ACIDO BUTIRICO	V _S	0.796	0.634
	F _S	0.601	0.361
	D _S	-0.740	0.548
	V _L	0.983	0.966
	F _L	0.933	0.870
	D _L	-0.889	0.790
	Tr _L	0.691	0.477
RELACION ACETATO PROPIONATO	V _S	0.928	0.861
	F _S	0.866	0.749
	D _S	-0.735	0.540
	Tr _S	0.665	0.442

La tasa de dilución de sólidos mostró tener una relación directa con la digestibilidad de la materia seca in vivo y de FDA in situ, e indirecta con la digestibilidad de hemicelulosa in situ. La tasa de dilución de líquidos presentó una relación positiva con la digestibilidad de la materia seca in vivo y de nitrógeno in situ.

El tiempo de recambio de sólidos presentó asociación positiva con la digestibilidad de FDA y hemicelulosa in situ y negativa con la materia seca in vivo, en tanto que el tiempo de recambio de líquidos solamente presentó asociación positiva con la digestibilidad de la materia seca in situ e in vivo y de nitrógeno in situ.

VI.5.3. PRODUCTOS DE FERMENTACION RUMINAL

El volumen y flujo de sólidos mostraron una relación directa con la producción de AGV's totales, acetato, butirato y con la relación acetato/propionato e inversa con la producción de propionato. El volumen y flujo de líquidos presentaron relaciones directas con la producción de butirato.

La tasa de dilución de sólidos correlacionó positivamente con la producción de propionato y fue negativa con la de acetato, butirato y con la relación acetato/propionato. Por otro lado, la tasa de dilución de líquidos correlacionó negativamente con la producción de butirato.

El tiempo de recambio de sólidos fue directamente proporcional a la producción de acetato y a la relación acetato/propionato, pero negativa con la producción de propionato, en tanto que el tiempo de recambio de líquidos, fue directamente proporcional a la producción de propionato y butirato, pero inversamente proporcional a la producción de AGV's totales y acetato.

VI.5.4. METABOLISMO NITROGENADO EN RUMEN

El volumen y flujo de sólidos correlacionaron positivamente con la cantidad de N-microbiano formado a partir de $N-NH_3$ y con el rendimiento celular, mientras que el volumen y flujo de líquidos correlacionaron positivamente con el Kam, N-microbiano formado a partir de $N-NH_3$ y con el rendimiento celular, pero negativo con la poza de $N-NH_3$.

La tasa de dilución de sólidos fue inversamente proporcional con el N-microbiano formado a partir de $N-NH_3$; sin embargo, la tasa de dilución de líquidos fue directamente proporcional con la poza de $N-NH_3$ y am y negativa con el Kam y el N-microbiano formado a partir de $N-NH_3$.

El tiempo de recambio de líquidos presentó asociación positiva con el Kam y negativa con la poza de $N-NH_3$ y am.

VII. DISCUSION

VII.1. CARACTERISTICAS QUIMICAS Y DIGESTIBILIDAD DEL RASTROJO DE MAIZ TRATADO Y SIN TRATAR CON AMONIACO ANHIDRO

El rastrojo de maiz amoniato (Cuadro VIII) presento un incremento en el contenido de proteina cruda (4,6,25,54,60,83,91, 93,95,104,106,122,136,139,153,166), debido a la adición de NH_3 y a una probable liberación del nitrógeno enlazado a la lignina, que al momento de llevarse a cabo la hidrólisis del complejo lignocelulósico se libera (77,115,148). La cantidad de NH_3 que se incorporó al rastrojo fue un valor promedio (25,29,152) ya que se han reportado valores menores (25,29,60,71,75,95,152). La retención de NH_3 probablemente se debe a la formación de sales minerales, lo que provoca que no se evapore (6). Este nivel de incorporación está determinado por el tipo de paja, la concentración de álcali, la humedad de la paja, el tiempo de reacción y la temperatura ambiente (135). Por otro lado, Dolberg *et al* (42) afirman que la fijación de nitrógeno es mayor en las variedades con un alto contenido de nitrógeno original que las que presentan un escaso contenido.

La amoniatoización del rastrojo produjo la hidrólisis de las uniones éster del complejo lignocelulósico, incrementando la solubilidad de la hemicelulosa (25,95,101,104,105,106,109, 139,149,150), lo que se vio reflejado en un decremento en su concentración y de igual forma, de las paredes celulares (4, 25,91,93,95,101,104,105,106,109,139,149,150), ya que ellas mismas incluyen a la hemicelulosa. Por otro lado, la amoniatoización no tuvo efecto sobre la FDA (25,60,95,101,104,105,106, 109,139,149,166), celulosa (25,71,91,139,149,150), lignina (54, 60,108,109,150) y cenizas.

Después de hidrolizarse los enlaces éster del complejo ligno celulósico, se incrementó la flexibilidad de la fibra, así como, el área de superficie de las paredes celulares, con lo cual se facilitó su digestión (29,85,122), observándose que la digestibilidad de la materia seca in situ e in vitro y la de paredes celulares in situ del rastrojo tratado se elevaron como ya ha sido informado en otras investigaciones (4,25,54,60,70,85,93,101,104,105,106,108,109,122,135,139,149,153,162,167).

En cuanto a la desaparición de nitrógeno in situ del rastrojo amoniato, presentó un aumento (6,95,101), lo que probablemente indica que los microorganismos ruminales lo emplearon con eficiencia para cubrir sus requerimientos nutricionales nitrogenados.

En la Gráfica 1, se muestra la cinética de digestión de materia seca de los rastrojos tratados y no tratados con NH_3 , donde se aprecia que la amoniatoización mejoró la digestión durante el muestreo, siendo probablemente digeridos en las primeras 3 h los nutrimentos mas solubles, como podría ser el nitrógeno soluble y los hidratos de carbono fácilmente fermentables, digiriéndose posteriormente las paredes celulares y el nitrógeno poco soluble. Todo esto aceleró la velocidad de degradación (167) y disminuyeron los tiempos medios (Cuadro IX). La cinética de degradación de las paredes celulares (Gráfica 2), mostró un comportamiento semejante al de la materia seca, a excepción de que las velocidades de degradación presentaron mayores incrementos (167).

En las cinéticas de degradación de la materia seca y paredes celulares, se presentó una fase lag durante el tiempo cero a las 3 h, donde no se llevó a cabo la digestión; sino que durante este tiempo existió una adherencia o asociación de los microorganismos con el sustrato previa a la digestión enzimática, la cual está afectada por la composición química, morfología, cristalinidad de la celulosa de la planta, etc. (98).

Las cinéticas de nitrógeno (Cuadro X) en ambos rastrojos, fue ron paralelas con una gran diferencia significativa entre ellas, donde se apreció que el rastrojo sin tratar no sufrió una verdadera digestión, ya que permaneció constante durante las 24 h de incubación; es decir, únicamente el nitrógeno soluble fue empleado por los microorganismos ruminales. Sin embargo, en el rastrojo tratado con NH_3 , además de incrementar el contenido de nitrógeno soluble a las 12 y 24 h, se observó otro incremento en la digestibilidad, lo cual sugiere que una porción de nitrógeno enlazado al rastrojo fue disponible por los microorganismos (60), el cual se libera al momento de llevarse a cabo la degradación de las paredes celulares; lo que reafirma la reacción de amonólisis (122), además, la velocidad de degradación se vió enormemente acelerada.

VII.2. CARACTERISTICAS QUIMICAS, CONSUMO Y DIGESTIBILIDAD DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

La composición química de las dietas experimentales (Cuadro XI), mostró incrementos en cuanto al contenido de proteína cruda en las dietas amoniatizadas (73,95,104,105,106) y cenizas, indicando que el NH_3 se fijó en la paja aún después del manejo en la elaboración de las dietas, mientras que, el aumento en las cenizas pudo haberse debido a que el nitrógeno amoniacal se retuvo en forma de sales inorgánicas. Por otro lado, al igual que en los rastrojos tratados con NH_3 , el contenido de paredes celulares y hemicelulosa disminuyó en las dietas amoniatizadas (73,95,104,105,106), siendo provocado por la hidrólisis de los enlaces éster del complejo lignocelulósico (29,85,122).

Los datos de consumos (Cuadro XII) no presentaron cambios significativos (60), sin embargo, el consumo de materia seca digestible presentó una tendencia a incrementarse con la amoniatización y la adición de urea, mejorándose aún más con ambos tratamientos. Esto resulta lógico, ya que al incrementarse el consumo

de materia seca, aunque sea ligeramente y no obstante que el consumo sea casi el mismo para cada dieta al hacer la conversión a materia seca digestible, obviamente tenía que incrementar el consumo. Por otro lado, el consumo tanto de proteína cruda como de proteína aparentemente digestible aumentó con la adición de NH_3 y aún más con NH_3 y urea. Estos incrementos en consumo probablemente también se debieron al aumento en la disponibilidad de hidratos de carbono (celulosa y hemicelulosa) producto de la amoniatización (122).

La excreción de nitrógeno fue significativa cuando se adicionó NH_3 y urea (108,109), lo que indicó que la adición de urea es innecesaria, pues tiende a excretarse. Al respecto Morris y Mowat (101) encontraron incrementos en el contenido de nitrógeno fecal de bovinos alimentados con rastrojo de maíz tratado con 3% de NH_3 .

Van Soest (148) indica que el nitrógeno fecal perdido es en promedio de 0.6% de la materia seca consumida, con lo que se advierten grandes pérdidas por la adición conjunta de NH_3 y urea. Estas pérdidas en el nitrógeno fecal se desconoce si corresponden al nitrógeno no digerible de la dieta (N exógeno) o bien al nitrógeno de excreciones metabólicas (N endógeno). Al respecto Hogan y Weston (65) aseguran que el aumento en el consumo de nitrógeno provoca incrementos en el nivel de nitrógeno fecal, el cual es de origen endógeno. Las excreciones metabólicas incluyen el nitrógeno de materia microbiana (paredes celulares-N, bacterias, nitrógeno insoluble y nitrógeno soluble- NH_3) y nitrógeno de secreciones endógenas (nitrógeno de descamación de las células epiteliales) (7,148).

Con el incremento en la suplementación de granos y otros ingredientes, los efectos de los tratamientos alcalinos (52) tienden a disfrazarse, como fue el caso de la digestibilidad de la materia seca in situ e in vivo (Cuadro XIII), donde no se observaron diferencias significativas entre dietas, no obs-

tante la digestibilidad de la materia seca in vitro, respondió a la adición de NH_3 y urea + NH_3 , indicando que ciertos aditivos provocan una respuesta diferente entre los tres tipos de digestibilidad, ya que cuando se compararon las tres entre sí, se detectó que la digestibilidad in vivo diferiría de la de in vitro cuando se adicionaba urea a la dieta con rastrojo amoniatizado y de la de in situ cuando se trataba el rastrojo con NH_3 o cuando se tenía NH_3 y urea. Al analizar las correlaciones existentes entre estas tres digestibilidades, se obtuvo que las máximas correlaciones correspondían a la relación de digestibilidad in vivo e in vitro, lo que indica que para mayor facilidad, se pueden realizar pruebas in vitro y que posteriormente pueden ser extrapolados los valores para obtener la digestibilidad in vivo, ya que su determinación es más costosa y complicada. En tanto que la digestibilidad in vitro e in situ muestra altas correlaciones, facilitando aún más las determinaciones, debido que la digestibilidad in situ es más sencilla que la de in vitro, aunque tiene la desventaja de requerir animales fistulados en rumen; así como de permanecer confinado el alimento dentro de la bolsa, no estando expuesto a ningún proceso de maceración debido a la masticación y rumia (a excepción de la molienda del alimento a través de una malla del No. 40); gran parte del alimento por su tamaño sale de la bolsa y no necesariamente se trata de una degradación completa a componentes químicos sencillos, por lo tanto, los resultados deben ser tratados con el debido cuidado y en general, ser usados como indicadores cualitativos de los principios generales de la actividad microbiana (113).

Con estas regresiones se puede apreciar que la digestibilidad in vitro es la más versátil, ya que presenta altas correlaciones tanto para la de in vivo como para la de in situ. Por otro lado, se observó que entre la digestibilidad in vivo e in situ existió una pequeña correlación, debido a que en la digestibilidad in situ, solamente se toma en cuenta la actividad microbiana

ruminal; mientras que en la de in vivo, se consideran todos los procesos digestivos. Sin embargo, Wanapat et al (154) obtuvieron altas correlaciones entre la digestibilidad in vivo a in situ, además de las de in vivo e in vitro y de las de in vitro e in situ en paja de cebada amoniatazada.

La digestibilidad de nitrógeno in situ e in vivo solamente presentó una ligera tendencia a incrementarse con la amoniatazación, sin ser estadísticamente diferentes, indicando que para los microorganismos ruminales es lo mismo adicionar NH_3 o urea. Al respecto, Morris y Mowat (101) proponen que no hay incrementos en la digestibilidad de nitrógeno, porque durante el tratamiento pudo haber condensación del nitrógeno con el aldehído de un hidrato de carbono vía la reacción de Maillard, o bien a la oxidación de fenoles (posiblemente lignina), con la formación de compuestos nitrogenados. Por otro lado, Nelson et al (105) y Males (95) opinan que también puede decrecer la digestibilidad de nitrógeno por la suplementación de proteína adicional al NH_3 .

Cuando se compararon los dos tipos de digestibilidad no fue de extrañarse que la de in situ fuera mayor y diferente a la de in vivo, debido a que en el rumen, el nitrógeno ya sea proteínico o no proteínico es utilizado por los microorganismos ruminales; mientras que in vivo todavía se continúan varios pasos por el tracto gastro intestinal, donde solamente se utiliza proteína bacteriana y sobrepasante.

Al igual que las digestibilidades de materia seca in situ y celulosa in vivo, las de paredes celulares, FDA y hemicelulosa no presentaron diferencias entre las dietas, debido al enmascaramiento del efecto de la amoniatazación por la presencia de los demás ingredientes (52), o bien, porque al suministrar una fuente de nitrógeno no proteínico la digestibilidad del suplemento disminuye.

Quando se realizó la determinación de cinéticas de degradación y los tiempos medios de degradación de materia seca, paredes celulares, FDA y hemicelulosa in situ de las dietas experimentales (Gráficas 3,4,5 y 6) se encontró que no presentaban diferencias significativas entre éstas en ninguna de las horas de incubación, lo que se explica nuevamente por el enmascaramiento del efecto de la amoniatización del rastrojo por la presencia de los demás ingre- dientes que eran ricos en proteínas e hidratos de carbono fácilmente fermentables (52,92). Sin embargo, en la cinética de digestibilidad de nitrógeno se encontraron diferencias provocadas por el incremento del nitrógeno soluble proporcionado en mayor cantidad por el NH_3 que por la urea, ya que la urea es mucho menos soluble que el NH_3 (67).

En todos los casos de cinéticas de degradación se observaron desviaciones estándar lo suficientemente grandes para disfra- zar la respuesta de la amoniatización, ya que en casi todas las cinéticas se tendió a mejorar la digestibilidad con el tratamiento con NH_3 , no siendo significativamente diferentes. Al respecto, Mehrez y Ørskov (96) y Kempton (82) exponen que las principales fuentes de variación asociadas con la medición de degradación son entre días y entre animales.

Los estudios cinéticos son necesarios para comprender el comportamiento de cualquier fermentación o digestión y en general, consisten en la medición de las velocidades de utilización de sustratos o de formación de productos (AGV's, NH_3 , CO_2 , CH_4 , proteína microbiana, etc.). Este caso presenta una fermentación del tipo I en donde la utilización del sustrato (materia seca) es es- tá directamente relacionada a la formación de producto (AGV's) (10, 119), ya que se tiene una correlación promedio de 0.94, incrementándose la velocidad de formación de AGV's con la adición de fuen-

tes de nitrógeno no proteínico (116,117), siendo mayor con el NH_3 y aún más con la combinación de NH_3 y urea, lo que indica que las fuentes nitrogenadas provocan que la formación de AGV's sea mayor por unidad de tiempo de digestión de la materia seca (incluyéndose la digestión de nitrógeno, paredes celulares, FDA, hemicelulosa, celulosa e hidratos de carbono fácilmente fermentables).

En la velocidad de degradación de la materia seca, nuevamente se observó un enmascaramiento del efecto del tratamiento con NH_3 , ya que no se hizo patente este efecto sobre la solubilidad de ciertos nutrimentos, como el nitrógeno, paredes celulares, FDA y hemicelulosa; sin embargo, cada componente por separado sí presentó mejoría en su velocidad de degradación, y que la digestibilidad se inició a la 1.5 h en las dietas conteniendo nitrógeno no proteínico y a las 3 h en la que no lo contenía. No obstante, Nelson *et al* (104) sostienen que la velocidad de degradación de la materia seca de dietas con mazorca de maíz se incrementa con la amoniatización.

En el caso del nitrógeno, su velocidad fue ligeramente mayor en la dieta RT, debido al incremento de nitrógeno soluble, que pudo ser aprovechado por los microorganismos ruminales en mayor proporción que otras fuentes de nitrógeno no proteínico, ya que generalmente los compuestos fácilmente fermentables son rápidamente degradados, mientras que los menos solubles son atacados más lentamente (148). Por otro lado, se puede decir que con la adición de urea se debió presentar velocidades parecidas, lo cual no sucedió debido a que su solubilidad es menor, o bien, porque la urea pudo actuar como un inhibidor reversible no competitivo, donde no se presenta una competencia entre sustrato (materia seca) e inhibidor (urea). En general, el inhibidor tiene poco o ninguna semejanza con la estructura del sustrato y se asume que se fija a una región diferente de la superficie de la enzima. Los inhibidores reversibles no competitivos abaten la velocidad máxima alcanzable con una cantidad dada de enzima, donde la reacción es retardada pero no impedida (57). Sin embargo, la adición de urea a la dieta con rastrojo amoniatizado presentó una interacción negativa, explicándose

porque la velocidad se acelera al aumentar la concentración de sustrato hasta el punto donde se dice que la enzima está saturada con el sustrato (57). Por otro lado, la digestibilidad de nitrógeno se inicia en todas las dietas a las 0 y 6 h de incubación.

En la velocidad de degradación de las paredes celulares y hemicelulosa se manifestó la acción del NH_3 con un incremento considerable, interpretado por la hidrólisis de los enlaces éster del complejo lignocelulósico (56,122), provocando un importante aumento en su solubilidad y disponibilidad y por consecuencia un mayor ataque de las enzimas microbianas. A diferencia de esto, la adición de urea indujo a un descenso en la velocidad, debido a que su inclusión no modificó la estructura lignocelulósica y por tanto no mejoró su solubilidad, o bien, por tratarse de un inhibidor reversible no competitivo. Todo esto se reflejó en la hora de inicio de la degradación, ya que en las dietas no tratadas con NH_3 o tratadas y suplementadas con urea, se inició a las 24 h o como en el caso de la dieta RSTU fue constante durante las horas de muestreo, mientras que en la dieta amoniatizada se inició a las 12 h.

La velocidad de digestión de la FDA exhibió alzas con la adición de nitrógeno no proteínico estimulando a las enzimas microbianas, sin embargo, la digestión mostró tiempos iniciales diferentes entre las dietas, siendo más rápido en las dietas RST y RTU, lo cual probablemente se debió a diferencias en la proliferación de microorganismos celulolíticos, provocado por el tipo de celulosas presentes en las dietas; proponiéndose que en esas dietas proliferan microorganismos que atacan a la celulosa cristalina como sería el caso de *B. succinógenes* (12,84). Wood *et al* (164) aseveran que los rastros contienen celulosa cristalina. Por otro lado, Nelson *et al* (104,106) reportan que la amoniatización de mazorcas de maíz no tuvo efecto sobre la velocidad y fase lag de la FDA.

VII.3. FERMENTACION RUMINAL EN OVINOS

Los AGV's que se forman por la acción de los microorganismos ruminales son producto final de la hidrólisis de celulosa, hemicelulosa, almidón y azúcares fácilmente fermentables. La producción de AGV's ruminales tiene una vital importancia en la determinación de la calidad y tipo de alimento consumido.

Cuando existe mayor disponibilidad de hidratos de carbono fácilmente fermentables y fuentes de nitrógeno soluble, la intensidad de la fermentación se eleva, lo cual sucedió en las dietas amoniatizadas (Gráfica 7), por el efecto de la solubilidad del NH_3 y del aumento en la energía fermentable dada por el incremento en la solubilidad de las paredes celulares, hemicelulosa y FDA (7), o bien, por el aumento en el área de superficie del alimento. Los resultados están apoyados por Oji y Mowat (109) y Morris (101), quienes también aseveran incrementos en la producción de AGV's en pajas amoniatizadas. Sin embargo, Al-Rabbat *et al* (7) y Males (95) afirman que la paja de trigo tratada con amoníaco ofrecida a ovinos, disminuye la producción de AGV's, indicando que la adición de NH_3 no fue suficiente para producir una adecuada fermentación ruminal (60).

La amoniatización provocó un incremento en la producción de ácido acético, producto del rompimiento hidrolítico de los grupos aceto de los polisacáridos de las paredes celulares (108) y por el seguimiento de la ruta piruvato-formato, ya que como más adelante se describirá la producción de metano también se aumenta. En lo relativo a esto, Oji y Mowat (108) y Morris (101) sostienen los resultados aquí obtenidos.

La importancia del acetato en el metabolismo intermediario del rumiante, es que representa una buena fuente energética (por su oxidación) después de ser absorbido del rumen, además de que es el más importante precursor lipogénico (148).

El efecto del NH_3 sobre la producción de propionato no se hizo patente, ya que no se presentaron diferencias significativas pero sí se llegó a notar una tendencia de incremento con el tratamiento, pero que debido a que hubo efecto de período, las desviaciones estándar fueron ligeramente grandes, pero suficientes para disfrazar el efecto de la amoniatización. Aunado a esto, existen datos que demuestran incrementos en el propionato con las pajas tratadas con NH_3 (101,108). Por otro lado, la observación de una interacción positiva entre NH_3 y urea fue de las pocas ventajas que presentó esta interacción, ya que por lo general exhibió efectos negativos.

La importancia de la producción de propionato dentro del metabolismo intermediario del rumiante radica en que es el único ácido graso volátil gluconeogénico (148).

Al igual que el propionato, el butirato no sufrió cambios con la dieta amoniatizada, aunque se notó un ligero incremento inducido principalmente por la urea. La importancia de la producción de butirato es similar a la del acetato, ya que representa una fuente energética (por su oxidación) después de ser absorbido del rumen, además de ser un precursor lipogénico (148).

Como se observa en el Cuadro XIV, las proporciones de AGV's no presentaron diferencias entre las dietas, pero la proporción de acetato fue menor y la de propionato mayor a lo esperado para dietas con alto contenido de forrajes. Por otro lado, la relación acetato/propionato exhibió diferencias entre las dietas, siendo más altas con la adición de urea y con la amoniatización.

En lo relativo a la producción de AGV's totales, acetato, propionato y butirato (Gráficas 8,9,10 y 11), todas siguieron cinéticas de primer orden, pero éstas se mantuvieron hasta las 12 h de fermentación, después de este tiempo tendió a disminuir la producción debido a la escasez de sustrato.

Las cinéticas de producción de AGV's totales y acetato fueron similares, ya que ésta última representa más de la mitad de los ácidos grasos volátiles formados. En ambos casos, en casi todos los tiempos de muestreo se detectaron tendencias a mejorar la producción con la adición de nitrógeno no proteínico, obteniéndose diferencias reales cuando se obtuvo un promedio de producción como anteriormente se expuso. Inicialmente la amoniatización, influyó en mayor proporción en su producción entre las 1.5 y 3 h, si bien, entre las 6 y las 12 h ambas fuentes de nitrógeno no proteínico manifestaron alzas en la producción, debido probablemente a la mayor solubilidad del NH_3 comparada con la de urea y porque se incrementó la solubilidad de la celulosa y hemicelulosa.

En lo referente a la velocidad de producción, se encontró que es mayor en las dietas con urea, sin embargo, entre ellas no hubo diferencias al inicio de la fermentación, ya que en la RSTU se inició a las 3 h y en la RTU a la 1.5 h, por lo cual la velocidad de formación de RSTU fue mayor, o sea, porque los aumentos en la producción fueron paulatinos, mientras que en RTU, inicialmente el incremento fue grande y posteriormente paulatino, lo que frenó la velocidad por escasez de sustrato, aunque se alcanzó al mismo tiempo la máxima producción. Algo similar ocurrió con RT y RST, donde RT inició y obtuvo su máxima producción a la 1.5 h, en tanto que RST empezó a la 1.5 h y alcanzó la máxima producción a las 3 h. En base a esto se puede decir que la dieta RT aunque presentó una menor velocidad de formación, la fermentación se inició y alcanzó su máximo nivel de producción en un menor tiempo, lo que se explica por su mayor disponibilidad de nitrógeno soluble y energía fermentable dada por la hemicelulosa y celulosa más solubles.

En la fermentación del ácido propiónico, solamente se encontraron diferencias muy marcadas a las 6 h, incrementándose en las dietas conteniendo nitrógeno no proteínico, siendo más acentuado en las dietas con urea, además de que en este caso no se encontraron interacciones inhibitorias, sino por el contrario, resultaron benéficas. En cuanto a los AGV's totales y acetato, las velocidades de producción se incrementaron en las dietas conteniendo urea, aunque entre éstas las diferencias fueron mínimas, repitiéndose las mismas causas que las cinéticas anteriores, ya que se inició y se alcanzó la máxima producción en ambas dietas a las 6 h. Las velocidades de las dietas RT y RST representaron un poco más de la mitad de las encontradas en las dietas con urea, sin presentar diferencias entre ellas, siendo el inicio de la fermentación a la 1.5 h y la máxima producción a las 6 h para ambas dietas. En base al comportamiento observado se dice que la urea inhibió la producción en las primeras horas, debido a que la concentración máxima fue igual para todas las dietas. En este caso la amoniatización no provocó diferencias en el inicio ni en la máxima producción.

Las velocidades de producción del ácido butírico también se aceleraron con la presencia de la urea, mostrando incrementos y máxima producción a las 6 h en la dieta RTU, mientras que en la RSTU las concentraciones fueron constantes durante toda la fermentación. En las dietas RT y RST las velocidades fueron muy bajas y diferentes entre ellas; sin embargo, la concentración de butirato en la dieta RST fue constante durante toda la fermentación, mientras que en la dieta RT el inicio y la máxima producción se llevó a cabo a las 12 h. En relación a todo esto, se concluye que la amoniatización y la adición de urea aceleran la producción de butirato.

En el pH se encontraron incrementos en la velocidad de producción de protones por la adición de urea (Cuadro XV), aunque como en el caso de los AGV's, se inició más tarde que en las dietas que no la contenían, sin embargo en la dieta RST se inició más rápidamente que en las dietas conteniendo alguna fuente de nitrógeno no proteínico, lo que se explica por la alcalinidad de la urea y el NH_3 . No obstante se ha reportado que el NH_3 y la urea hidrolizada son convertidos a bicarbonato de amonio que contribuye al sistema amortiguador en el rumen (148), lo cual explica porqué no hubo diferencias en el promedio de pH entre las 4 dietas. Crawford *et al* (32) comentan que el pH ruminal se ve afectado por la cantidad de saliva, alimento y agua de bebida que entra y la cantidad de ácidos orgánicos formados.

El pH es un factor muy importante en la absorción de nutrientes como es el caso del NH_3 y AGV's que son absorbidos cuando el pH es ácido (normalmente 5.5 a 7.0) (14,36).

La producción de CO_2 (Cuadro XVI) no se vio afectada por la amoniatización, ya que éste proviene de la formación de acetato y de butirato y como la producción de butirato no presentó diferencias con el tratamiento con NH_3 , tampoco las hubo en la producción de CO_2 . Sin embargo, el CO_2 proveniente de la formación del acetato al reaccionar con protones (H^+) forma metano, por lo que el CO_2 generado por esa vía fue muy pequeña. En cambio, la producción de metano se incrementó por la amoniatización y la adición de urea, debido al aumento en la producción de acetato.

Los cambios en el tipo de fermentación ruminal se deben al cambio en la relación rastrojo: concentrado, alteración del nivel de alimentación y del procesado del rastrojo (32).

Una etapa importante en el metabolismo ruminal es la producción de ATP, ésta se incrementó al adicionar una fuente de nitrógeno no proteínico, pero se inhibió con la adición de NH_3 y urea. Esta producción se elevó debido a que la producción de AGV's totales se benefició por la amoniatización y la adición de urea, lo que significó que dentro del rumen se encontrara más energía disponible para la formación de nuevas células microbianas y por lo tanto en el incremento en el rendimiento celular en toda la digesta ruminal. Al elevarse la síntesis de proteína microbiana, más proteína saldrá del rumen para dirigirse a los demás compartimientos para cubrir los requerimientos del animal.

VII.4 METABOLISMO NITROGENADO EN OVINOS

La producción de NH_3 ruminal (A_m) se incrementó con la amoniatización y en segundo lugar con la adición de urea y $\text{NH}_3 +$ urea. Esto queda apoyado por los estudios de Zorrilla et al (167) y Herrera-Saldaña et al (60) quienes reportaron aumentos en la producción de NH_3 ruminal al ser tratada la paja de trigo con 3.5 y 5% de NH_3 respectivamente. La producción de NH_3 en las dietas amoniatizadas fue mayor debido a su alto grado de solubilización, la cual sobrepasa al de la urea (67). En el rastrojo sin tratar, la producción fue constante con respecto al tiempo de fermentación, esto condujo a dos supuestos: a) que casi no hubo proteólisis, o b) que el amoníaco que se produjo inmediatamente fue asimilado por los microorganismos ruminales. La segunda suposición queda descartada porque la tasa de incorporación de N-NH_3 dentro de microorganismos no se incrementó en esta dieta. En las demás dietas (RSTU, RT y RTU) la máxima producción se alcanzó a la 1.5 h, lo que indicó que al mismo tiempo fue solubilizado el NH_3 y la urea, aunque no en la misma proporción, siendo estos tiempos similares a los encontrados por Bondi (20).

La presencia de sales amoniacales asociadas químicamente entre el NH_3 y otros compuestos celulares de la paja, probablemente explique la gran poza de NH_3 en pajas tratadas (7). La interpretación de la concentración de NH_3 en el rumen no es sencilla, porque cuando las concentraciones son altas, podría señalar índices altos de producción y bajos de utilización. Por otro lado, la poza de amoníaco correlacionó positivamente con el consumo de nitrógeno, lo cual está sustentado por Al-Rabbat et al (7) y Merchen et al (97) quienes observaron la existencia de una razonable consistencia entre el incremento en el consumo de nitrógeno y el tamaño de la poza de NH_3 .

La alta regresión entre concentración de NH_3 ruminal y digestibilidad de nitrógeno in situ era la esperada, pues al llevarse a cabo una mayor degradación de nitrógeno, éste se libera como NH_3 por medio de las reacciones de desaminación de proteínas, o bien, si se contiene urea, ésta debe ser hidrolizada para formar NH_3 y si se presenta NH_3 solamente se requiere de su solubilización.

Como ya se ha establecido en otros capítulos, para que se lleve a cabo una buena digestión de materia seca y de la celulosa y hemicelulosa, es necesario que se tenga suficiente nitrógeno e hidratos de carbono fácilmente fermentables, por lo que la digestibilidad de estos dos componentes, fue incrementada con el ascenso en la concentración de NH_3 . Estos mismos efectos poco se reflejaron en la digestibilidad in vitro e in vivo, ya que de hecho la mayor importancia que tiene la concentración de NH_3 es a nivel ruminal.

La regresión entre la concentración de NH_3 y la producción de propionato fue importante, ya que este último tendió a incrementarse con la amoniatización. Los demás AGV's no correlacionaron con la concentración de NH_3 .

La tasa de incorporación de $N-NH_3$ dentro de los microorganismos (am), presentó una respuesta favorable con la amoniatización, por lo que se confirma que el NH_3 fue preferido a la urea para formar parte de las células microbianas y por presentar una buena disponibilidad de compuestos carbonados (95). Además, la alta correlación entre consumo de nitrógeno y el am corrobora su asimilación por los microorganismos ruminales. Por otro lado, la tasa de recambio de $N-NH_3$ (Kam) presentó un descenso con la amoniatización, debido a que se incrementó la tasa de incorporación de $N-NH_3$ dentro de los microorganismos, lo que se asegura con la alta correlación negativa que presentaron el Kam y el am. Este mismo comportamiento fue observado por Al-Rabbat et al (7) con paja de trigo tratada con 3% de NH_3 , quienes expresaron que existe una relación recíproca aparente entre el Kam y el am, resultando en rangos comparables aproximados de incorporación de $N-NH_3$ dentro de microorganismos, lo cual indica que la población bacteriana es capaz de ajustar su consumo de $N-NH_3$, así como la asimilación de una cantidad de nitrógeno.

El N-microbiano formado a partir de $N-NH_3$ y el rendimiento celular no presentaron diferencias (7), aunque tendieron a incrementarse con la adición de urea, debido a que con estas dietas la digesta ruminal total fue mayor, además de que su formación fue independiente del consumo de nitrógeno (7,20). Contradictoriamente a lo obtenido, Merchen et al (97) encontraron incrementos en el consumo de nitrógeno que coadyuvaron a una mayor síntesis de N-bacteriano. Por otro lado, Hoover et al (66) y Bondi (20) señalan que no necesariamente a un incremento de $N-NH_3$ se produce un aumento en la síntesis de proteína microbiana, pues su producción presenta un máximo donde ya no responde a las concentraciones de NH_3 en el medio, produciendo un desperdicio de nitrógeno y una acumulación de NH_3 . Sin embargo, la extensión y tasa de digestión de las fuentes de nitrógeno e hidratos de

carbono son de mayor importancia en la determinación de la eficiencia de la síntesis de proteína microbiana (133).

VII.5. CINÉTICA DE SÓLIDOS Y LÍQUIDOS EN RUMEN

Como se mostró en el Cuadro XIX, la amoniatización no provocó cambios en la cinética de sólidos y líquidos, siendo similares los resultados a los obtenidos por Nelson *et al* (105,106).

En la determinación de las cinéticas de sólidos y líquidos se tuvieron variaciones en las estimaciones experimentales probablemente a algún efecto entre animales y/o entre días, lo cual está perfectamente sustentado por Thomas (142), Warner (156) y Hodgson (64).

El ligero incremento en el volumen de sólidos provocados por la amoniatización, se explica por el pequeño incremento en el consumo de materia seca (156). Por otro lado, en la dieta RT el contenido de materia seca del contenido ruminal equivalió a un 11% de la digesta ruminal total, dato que cae dentro de los límites propuestos por Hungate (68), el cual abarca de 10-18% de materia seca ruminal; las demás dietas presentaron menores porcentajes que fluctuaban entre 8 y 9.7%. El volumen de líquidos obtenido en la dieta RT concuerda con un volumen de una alimentación con poca fibra, ya que alimentos fibrosos provocan incrementos en el volumen hasta aproximadamente 6 L, además concuerda con el volumen obtenido con alimentación a base de alfalfa, siendo de 4.5 L propuesto por Baldwin y Allis (13).

El volumen de líquidos en el rumen es afectado por la recirculación salival, la difusión a través del epitelio, la ingestión y el paso del contenido ruminal hacia el omaso (156).

En lo relativo al flujo de sólidos, el pequeño incremento concuerda con lo observado por Nelson et al (105,106), ya que al aumentar el volumen, el flujo también se acelera. Los rangos fisiológicos del flujo de digesta que se obtuvieron fueron de 3,3.5,3.8 y 4%/h para la dieta RST,RSTU,RT y RTU respectivamente, lo que está dentro de los límites propuestos por Bergen (79), siendo mayores los flujos con la adición de amoníaco, alcanzando la mitad del límite superior propuesto.

La tendencia de incrementar la tasa de dilución de sólidos correlaciona con la investigación de Zorrilla et al (167) con paja de trigo tratada con 3.5% de NH_3 , estando estrechamente asociado al incremento en el flujo de sólidos. Principalmente cuando se alimenta con forrajes, las diluciones son bajas debido a que durante la noche es cuando el animal no es alimentado y se presenta la rumia (68).

Al-Rabbat y Heaney (7) comentan que el alto contenido de materia seca de la digesta, la baja tasa de dilución y el alto tiempo de recambio encontrada en las dietas amoniatizadas pueden beneficiar al animal, puesto que un alto tiempo de recambio de digesta en el rumen permite a los microorganismos ruminales una mayor oportunidad de fermentarla.

El consumo correlacionó positivamente con el flujo de sólidos y negativamente con el tiempo de recambio de sólidos y líquidos, lo cual ratifica lo observado por Oji y Mowat (108,109) quienes encontraron que en pajas amoniatizadas se decrecía el tiempo de recambio y se incrementaba la tasa de dilución, probablemente con el aumento en el consumo. Por otro lado, Mertens (99) observó que el tiempo de recambio de sólidos se relacionaba con el nivel de consumo, forma física y tiempo de rumia.

Al aumentar el consumo, se tiende a incrementar el flujo, ya que el rumen se comporta muy similarmente a un quimiostato (19).

El volumen de sólidos y líquidos correlacionó negativamente con la digestibilidad de materia seca in vivo, debido a que a mayor volumen mayor tiempo de recambio, lo que provoca que el alimento permanezca más tiempo en el rumen, disminuyendo el paso de la digesta a los demás compartimientos del tracto digestivo, por lo que la digestibilidad in vivo disminuye. Sin embargo, la digestibilidad de paredes celulares y hemicelulosa in situ correlacionaron positivamente con el volumen, ya que el tiempo de exposición a los microorganismos fue mayor.

La relación inversa entre flujo de líquidos y la digestibilidad de materia seca in vivo y de nitrógeno in situ pudo ser debida a que al salir más rápidamente el líquido, también salen junto con él las bacterias hidrolíticas y proteolíticas, o bien, la deshidrogenasa glutámica, las cuales participan en la degradación de nitrógeno y materia seca en general.

El incremento en la digestibilidad de la materia seca, paredes celulares y FDA in situ está relacionada con el aumento del flujo de sólidos. Por otro lado, la tasa de dilución de sólidos y líquidos mostró una correlación directa con la digestibilidad de materia seca in vivo y de FDA in situ, siendo coherente con lo encontrado por Crawford et al (32).

El tiempo de recambio de sólidos presentó asociación positiva con la digestibilidad de FDA y hemicelulosa in situ, siendo apoyado por Crawford et al (32) y Hoover et al (66) y refutado por Mertens (98,99). Es bien conocido que al permanecer la digesta ruminal más tiempo expuesta al ataque microbiano, las digestibilidades se incrementan. Sin embargo, la digestibilidad de materia seca in vivo no correlacionó positivamente con el tiempo de recambio, porque pasa menor cantidad de digesta (en un tiempo dado) al resto del tracto digestivo para proseguir su digestión.

En lo relativo a la fermentación ruminal, se obtuvo que el volumen y flujo de sólidos presentaban relación directa con la producción de AGV's totales, acetato, butirato y la relación acetato/propionato e inversa con la producción de propionato, lo cual está apoyado por Chalupa (36) y Hoover et al (66) en el caso del flujo de líquidos.

La tasa de dilución de líquidos correlacionó directamente con la producción de acetato y la relación acetato/propionato, pero inversamente proporcional con la producción de propionato, lo cual está apoyado por Crawford et al (32) y Harrison et al (59). Sin embargo, la tasa de dilución de sólidos fue directamente proporcional a la producción de propionato y butirato, pero inversamente proporcional a la producción de AGV's totales y acetato, lo que indica una depresión en la tasa de fermentación (36).

Hungate (68) asevera que a mayores tasas de dilución, se propician lentas tasas de fermentación, debido al menor tiempo de exposición del sustrato a las bacterias microbianas, sin embargo, contradictoriamente Crawford et al (32) opinan que al disminuir las tasas de dilución, conjuntamente se disminuyen las tasas de fermentación.

En el caso del tiempo de recambio de sólidos, fue directamente proporcional a la producción de acetato y a la relación acetato/propionato, lo que concuerda con lo observado por Crawford et al (32). Por otro lado, el tiempo de recambio de líquidos es directamente proporcional a la producción de propionato y butirato e inversamente proporcional a la producción de AGV's totales y acetato, lo que sostiene Crawford et al (32) en sus estudios.

Las regresiones positivas entre volumen y flujo de sólidos y líquidos con la formación de N-microbiano a partir de N-NH₃ y con el rendimiento celular, concuerda con lo establecido por Crawford et al (33), quienes observaron que el flujo de sólidos puede tener un mayor efecto sobre la eficiencia de la síntesis de proteína que la dilución, porque las bacterias están más relacionadas a la fase sólida. Mientras tanto, Hagemeister et al (55) han descrito un efecto del flujo de la digesta sobre la síntesis de proteína microbiana, pero que este efecto no puede ser considerado por separado porque el flujo está estrechamente enlazado al tipo de materia orgánica fermentable en la dieta.

La regresión positiva entre volumen y flujo de líquidos y la poza de NH₃, se debe a que a mayor velocidad de salida del líquido del rumen más rápidamente se pierde el NH₃.

En relación a la regresión inversa entre la tasa de dilución de sólidos y líquidos y el N-microbiano formado a partir de N-NH₃, Van Soest (148) expone que altas diluciones causan ineficiencias por la pérdida de sustrato no fermentado, lo que ocasiona una competencia entre la tasa de dilución y el tiempo de generación celular, sin embargo, la tasa de dilución de líquidos correlacionó positivamente con la poza de NH₃ y el am, lo que está respaldado por varias investigaciones que aseveran incrementos en la tasa de crecimiento microbiano (19,49,59,61, 114,133).

VIII. CONCLUSIONES

1. La amoniatización del rastrojo de maíz provocó un incremento en la solubilidad de la pared celular (principalmente hemicelulosa), lo que propició un aumento de la digestibilidad y de la tasa de degradación de materia seca, paredes celulares (hemicelulosa) y nitrógeno.
2. El alto nivel de inclusión del suplemento en las dietas experimentales causó una disminución en la digestibilidad de las paredes celulares y presentó un efecto asociativo con el rastrojo, por lo que se enmascaró el efecto del tratamiento, evitando cambios en el consumo voluntario, en la digestión de materia seca, paredes celulares y nitrógeno, y en la cinética ruminal de sólidos y líquidos.
3. La suplementación de fuentes nitrogenadas no proteínicas indujeron la formación de AGV's por unidad de tiempo de digestión de la materia seca y por consiguiente se incrementó la producción de ATP y el rendimiento celular.
4. La producción de $N-NH_3$ ruminal motivada por la inclusión de rastrojo de maíz amoniatizado y/o la adición de urea, indujeron una mayor digestibilidad in vivo de nitrógeno y desaparición in situ de nitrógeno, FDA y materia seca, e incrementaron la formación de ácido propiónico, acético y AGV's totales.
5. Debido a que la suplementación de urea a la dieta con base en rastrojo de maíz amoniatizado provocó una inhibición reversible no competitiva con el sustrato, o bien, una saturación de la enzima, la adición de urea es inconveniente.
6. La suplementación de urea al rastrojo de maíz sin tratar o la inclusión de rastrojo tratado con NH_3 , mostraron respuestas muy similares en todas las variables estudiadas, lo que indicó que ambas fuentes nitrogenadas pueden emplearse indistintamente.

IX. LITERATURA CITADA

1. Akin, D.E. and Barton, F.E.: "Rumen microbial attachment and degradation of plant cell walls". Fed. Proc., 42: 114-121 (1983).
2. Albersheim, P.: "The walls of growing plants". Scientific Amer., 232: 80-95 (1975).
3. Alexander, M.: "Introduction to soil microbiology". 163-210. John Wiley & Sons, INC. Toppan Company, LTD, Tokyo, Japan (1961).
4. Alibés, X., Muñoz, F. and Faci, R.: "Anhydrous ammonia-treated cereal straw for animal feeding. Some results from the Mediterranean area". Anim. Feed Sci., Technol., 10: 239-246 (1984).
5. Allison, M.J.: "Nitrogen metabolism of ruminal micro-organisms". In Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant. Edited by Phillipson, A.T., 456-473. Oriel Press Limited, Newcastle Upon Tyne, England (1970).
6. Al-Rabbat, M.F. and Heaney, D.P.: "The effects of anhydrous ammonia treatment of wheat straw and steam cooking of aspen wood on their feeding value and on ruminal microbial activity. I. Feeding value assessments using sheep". Can. J. Anim. Sci., 58: 443-451 (1978).
7. Al-Rabbat, M.F. and Heaney, D.P.: "The effects of anhydrous ammonia treatment of wheat straw and steam cooking of aspen wood on their feeding value and on ruminal microbial activity. II. Fermentable energy and microbial growth derived from ammonia nitrogen in the ovine rumen". Can. J. Anim. Sci., 58: 453-463 (1978).
8. Anderson, D.C.: "Use of cereal residues in beef cattle production systems". J. Anim. Sci., 46: 849-861 (1978).
9. Association of Official Analytical Chemists. (A.O.A.C.). Official Methods of Analysis. 13th Ed., Washington, D.C. (1980).
10. Badui, S.D.: "Química de los Alimentos". 207-233. Ed. Alhambra Mexicana, S.A. México (1981).

11. Balch, C.C. and Campling, R.C.: "Rate of passage of digesta through the ruminant digestive tract". In *Physiology of Digestion in the Ruminant*. Edited by Dougherty, R.W., 108-123. Ed. Butterworths, London (1965).
12. Baldwin, R.L., Lucas, H.L. and Cabrera, R.: "Energetic relationships in the formation and utilization of fermentation end products". In *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant*. Edited by Phillipson, A.T., 319-334. Oriel Press Limited, Newcastle Upon Tyne, England (1970).
13. Baldwin, R.L. and Allison, R.L.: "Metabolism of the rumen". *J. Anim. Sci.*, 57, Suppl. 2 (1983).
14. Bartley, E.E. and Deyoe, C.W.: "Reducing the rate of ammonia release by the use of alternative non-protein nitrogen sources". In *Recent Developments in Ruminant Nutrition*. Edited by Haresign, W. and Cole, D.J.A., 99-114, Butterworths, London (1981).
15. Bateman, J.V.: "Nutrición animal". *Manual de Métodos Analíticos*. Ed. Herrero Hernández Hermanos, Sucesores, S.A., México (1970).
16. Bauman, D.E., Davis, C.L., Frobish, R.A. and Sachan, D.S.: "Evaluation of polyethylene glycol method in determining rumen fluid volumen in dairy cows fed different diets". *J. Dairy Sci.*, 54: 928-930 (1971).
17. Baumgardt, B.R.: "Utilization of cellulose by ruminants". In *Cellulases and their applications*. 242-244. Washington, D.C., American Chemical Society. *Advances Chem. Ser.* 95 (1969).
18. Bergen, W.G. and Yokoyama, M.T.: "Productive limits to rumen fermentation". *J. Anim. Sci.*, 64: 573-584 (1977).
19. Bergen, W.G.: "Factors affecting growth yields of microorganisms in the rumen". *Trop. Anim. Prod.*, 4: 13-20 (1979).
20. Bondi, A.: "Metabolism of protein in ruminant animals. A Review". *Nutr. Rep. Intern.*, 23: 993-1002 (1981).
21. Broderick, G.A.: "In vitro procedures estimating rates of ruminal protein degradation and proportions of protein escaping the rumen undergraded". *J. Nutr.*, 108: 181-190 (1978).

22. Brown, G.F., Armstrong, D.G. and Mac Rae, J.C.: "The establishment in one operation of a cannula into the rumen and reentrant cannulae into the duodenum and ileum of the sheep". Br. Vet. J., 124: 78-82 (1968).
23. Bruchmann, E.E.: "Bioquímica técnica". Ed. Acribia, Zaragoza, España (1980).
24. Bryant, M.P.: "Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria". Fed. Proc., 32: 1809-1813 (1973).
25. Buettner, M.R., Lechtenberg, V.L., Hendrix, K.S. and Hertel, J.M.: "Composition and digestion of ammoniated tall fescue (Festuca arundinacea Schreb) hay". J. Anim. Sci., 54: 173-178 (1982).
26. Bull, L.S., Rumpler, W.V., Sweeney, T.F. and Zinn, R.A.: "Influence of ruminal turnover on site and extent of digestion". Fed. Proc., 38: 2713-2719 (1979).
27. Buttery, P.J.: "Aspects of the biochemistry of rumen fermentation and their implication in ruminant productivity". In Recent Developments in Ruminant Nutrition. Edited by Haresign, W. and Cole, D.J.A., 140-156. Butterworths, London (1981).
28. Calderón, G.F., Rojas, R., Shimada, A.S. y Peraza, C.C.: "Alimentación de becerros con rastrojo de maíz tratado con álcali". Vet. Méx., 6: 92-95 (1975).
29. Capper, B.S., Morgan, D.J. and Parr, W.H.: "Alkali-treated roughages for feeding ruminants: a review". Trop. Sci., 19: 73-88 (1977).
30. Cochran, W.G. y Cox, G.M.: "Diseños experimentales". Ed. Trillas, México (1978).
31. Cowling, E.B. and Brown, W.: Advances chem. Ser., 95: 152 (1969).
32. Crawford, R.J., Hoover, W.H. and Knowlton, P.H.: "Effects of solids and liquid flows on fermentation in continuous cultures. I. Dry matter and fiber digestion, VFA production and protozoa numbers". J. Anim. Sci., 51: 975-985 (1980).

33. Crawford, R.J., Hoover, W.H. and Junkins, L.L.: "Effects of solids and liquid flows on fermentation in continuous cultures. II. Nitrogen partition and efficiency of microbial synthesis". *J. Anim. Sci.*, 51: 986-995 (1980).
34. Czarnocki, J., Sibbald, I.R. and Evans, E.V.: "The determination of chromic oxide in samples of feed and excreta by acid digestion and spectrophotometry". *Can. J. Anim. Sci.*, 41: 167-169 (1961).
35. Chalupa, W.: "Metabolic aspects of non-protein nitrogen utilization in ruminant animals". *Fed. Proc.*, 31: 1152-1164 (1972).
36. Chalupa, W.: "Manipulating rumen fermentation". *J. Anim. Sci.*, 46: 585-599 (1977).
37. Cheng, K.J., Stewart, C.S., Dinsdale, D. and Costerton, J.W.: "Electron microscopy of bacteria involved in the digestion of plant cell walls". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 10: 93-120 (1984).
38. Dehority, B.A.: "Hemicellulose degradation by rumen bacteria". *Fed. Proc.*, 32: 1819-1825 (1973).
39. Delfosse-Debusscher, J., Thines-Sempoux, D., Vanbelle, M. and Latteur, B.: "Contribution of protozoa to the rumen cellulolytic activity". *Ann. Rech. Vét.*, 10: 255-257 (1979).
40. Demarquilly, C.: "Valuer nutritive et utilisation des sous-produits de la culture du maïs". 411-420. Ed. I.N.R.A. Publication, B.T.I. (1979).
41. Demeyer, D. and Van Nevel, C.: "Protein fermentation and growth by rumen microbes". *Ann. Rech. Vét.*, 10: 277-279 (1979).
42. Dolberg, F., Snachullah, M., Haque, M. y Ahmed, R.: "Almacenamiento de la paja tratada con urea". *Rev. Mundial de Zootecnia*, 38: 37-41 (1981).
43. Downes, A.M. and McDonald, I.W.: "The chromium-51 complex of ethylenediamine tetraacetic acid a soluble rumen marker". *Brit. J. Nutr.*, 18: 153-163 (1964).

44. Ehle, F.R., Bas, F., Barno, B., Martin, R. and Leone, F.: "Particulate rumen turnover rate measurement as influenced by density of passage marker". *J. Dairy Sci.*, 67: 2910-2913 (1984).
45. Ellis, W.C., Matis, J.H. and Lascano, C.: "Quantitating ruminal turnover". *Fed. Proc.*, 38: 2702-2706 (1979).
46. El Maiz. México Indígena, 64. Instituto Nacional Indigenista (1982).
47. Erwin, E.S., Marco, G.J., Emery, E.M.: "Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography". *J. Dairy Sci.*, 44: 1768-1771 (1969).
48. Estell, R.E. and Galyean, M.L.: "Relationship of rumen fluid dilution rate to rumen fermentation and dietary characteristics of beef steers". *J. Anim. Sci.*, 60: 1061-1071 (1985).
49. Evans, E.: "An evaluation of the relationships between dietary parameters and rumen liquid turnover rate". *Can. J. Anim. Sci.*, 61: 91-96 (1981).
50. Evans, F.: "An evaluation of the relationships between dietary parameters and rumen solid turnover rate". *Can. J. Anim. Sci.*, 61: 97-103 (1981).
51. Faichney, G.J.: "The use of markers to partition within the gastro-intestinal tract of ruminants". In *Physiology of Digestion in the Ruminant*. Edited by McDonald, I.W. and Barner, A.C.I. 277-291. University of New England, Armidale (1975).
52. Gilchrist, F.M.C., Henning, P.A., Van der Linden, Y., Mattheyse, M.E., Rauhaus, W.K. and Schwartz, H.M.: "Factors affecting digestion of grain-supplemented straw". *Ann. Rech. Vét.*, 10: 320-322 (1979).
53. Goering, H.K. and Van Soest, P.J.: "Forage fiber analyses". *Agriculture Handbook No. 379*. Agricultural Research Service. United States Department of Agriculture (1975).
54. Graham, H. and Aman, P.A.: "A comparison between degradation in vitro and in sacco of constituents of untreated and ammonia-treated barley straw". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 10: 199-213 (1984).

55. Hagemester, H., Lüpping, W. and Kaufmann, W.: "Microbial protein synthesis and digestion on in the high-yielding dairy cow". In Recent Development in Ruminant Nutrition, Edited by Haresign, W. and Cole, D.J.A. 31-48 Butterworths, London (1981).
56. Harbers, L.H., Kreitner, G.L., Davis, G.V., Rasmussen, M.A. and Corah, L.R.: "Ruminal digestion of ammonium hydroxide-treated wheat straw observed by scanning electron microscopy". J. Anim. Sci., 54: 1309-1319 (1982).
57. Harper, H.A., Rodwell, V.W. and Mayes, P.A.: "Manual de química fisiológica". 64-85 6a. Ed. Editorial El Manual Moderno, S.A. México, D.F. (1978).
58. Harrison, D.C., Beever, D.E., Thomson, D.J. and Osbourn, D. E.: "Manipulation of rumen fermentation in sheep by increasing the rate of flow water from the rumen". J. Agric. Sci. Camb., 85: 93-101 (1975).
59. Harrison, D.C., Beever, D.E., Thomson, D.J. and Osbourn, D. E.: "Manipulation of fermentation in the rumen". J. Sci. Feed Agric., 27: 617-620 (1976).
60. Herrera-Saldaña, R., Church, D.C. and Kellems, R.O.: "The effect of ammoniation treatment on intake and nutritive value of wheat straw". J. Anim. Sci., 54: 603-608 (1982).
61. Hespell, R.B.: "Efficiency of growth by ruminal bacteria". F.d. Proc., 38: 2707-2712 (1979).
62. Hespell, R.B. and Bryant, M.P.: "Efficiency of rumen microbial growth: influence of some theoretical and experimental factors on Y_{ATP} ". J. Anim. Sci., 49: 1640 (1979).
63. Hobson, P.N.: "The microflora of the rumen". Patterns of Progress. Meadowfield Press Ltd. England (1976).
64. Hodgson, J.C. and Thomas, P.C.: "A relationship between the molar proportion of propionic acid and the clearance rate of the liquid phase in the rumen of the sheep". Br. J. Nutr., 33: 447-456 (1975).

65. Hogan, J.P. and Weston, R.H.: "Quantitative aspects of microbial protein synthesis in the rumen". In *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant*. Edited by Phillipson, A.T., 476-485. Oriel Press Limited, Newcastle Upon Tyne, England (1970).
66. Hoover, W.H., Crawford, R.J. and Stern, M.D.: "Effects of solids and liquid flows on fermentation in continuous cultures. III. Solids retention time". *J. Anim. Sci.*, 54: 849-854 (1982).
67. Houpt, T.R.: "Transfer of urea and ammonia to the rumen". In *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant*. Edited by Phillipson, A.T., 119-131. Oriel Press Limited, Newcastle Upon Tyne, England (1970).
68. Hungate, R.E.: "The rumen and its microbes". Academic Press. New York and London (1966).
69. Hydén, S.: "A turbidimetric method for determination of higher polyethylene glycol in biological materials". *Kingl., Lanbrukshögskolans annaler.*, 27: 139-145 (1955).
70. Ibbotson, C.F., Mansbridge, R. and Adamson, A.H.: "Commercial experience of treating straw ammonia". *Animal. Feed Sci. Technol.*, 10: 223-228 (1984).
71. Jackson, M.G.: "Review article: The Alkali treatment of straw". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2: 105-130 (1977).
72. Jackson, M.G.: "Métodos de tratamiento de la paja para la alimentación animal". Estudio FAO: Producción y Sanidad Animal, No. 10. FAO, Roma (1978).
73. Jiménez, A.D. y Shimada, A.S.: "Comportamiento del borrego pelibuey en crecimiento, alimentado en base a rastrojo de maíz tratado con álcalis (NH₃, NaOH, urea)". Reunión de Investigación Pecuaria en México. 692-694. México, D.F. (1983).
74. Johnson, R.R.: "Influence of carbohydrate solubility on non-protein nitrogen utilization in the ruminant". *J. Anim. Sci.*, 43: 184-191 (1976).
75. Jorgensen, L.M.: "Wheat straw + NH₃ could feed cattle if corn price climb". *Feedlot Management*, Decembre: 14-16 (1978).
76. Jouany, J.P.: "Etude des traitements permettant d'améliorer la valeur alimentaire des fourrages 'pauvres' (pailles)". *Bulletin Technique du CRZV Theip*, 21: 5-15 (1974).

71. Jounny, J.P. and Senaud, J.: "Role of rumen protozoa in the digestion of food cellulosic materials". Ann. Rech. Vét., 10: 261-263 (1979).
72. Jung, H.G. and Fahey, G.C. Jr.: "Nutritional implications of phenolic monomers and lignin: review". J. Anim. Sci., 57: 206-219 (1983).
73. Jung, H.G. and Vogel, K.P.: "Influence of lignin on digestibility on forage cell wall material". J. Anim. Sci., 62: 1703-1712 (1986).
80. Kato, S., Sasaki, Y. and Tsuda, T.: "Food intake and rumen osmolarity in sheep". Ann. Rech. Vét., 10: 229-230 (1979).
81. Kellaway, R.C. y Leibholz, J.: "Efectos de los suplementos nitrogenados en la ingestión y utilización de forrajes de baja calidad". Rev. Mundial de Zootecnia, 48: 33-37 (1983).
82. Kempton, T.J.: "El uso de la bolsa de nylon para caracterizar el potencial de degradabilidad de alimentos para el rumiante". Prod. Anim. Trop., 5: 115-126 (1980).
83. Kernan, J.A., Crowl, W.L., Spurr, D.T. and Cowxworth, E.C.: "Straw quality of cereal cultivars before and after treatment with anhydrous ammonia". Can. J. Anim. Sci., 59: 511-517 (1979).
84. Kistner, A., Therion, J., Kornelius, J.H. and Hugo, A.: "Effect of pH on specific growth rates of rumen bacteria". Ann. Rech. Vét., 10: 268-270 (1979).
85. Klopfenstein, T.J., Krause, V.E., Jones, M.J. and Woods, W.: "Chemical treatment of low quality roughages". J. Anim. Sci., 35: 418-422 (1972).
86. Kotb, A.R. and Luckey, T.D.: "Markers in nutrition". Nutr. Abstracts & Reviews, 42: 814-845 (1972).
87. Leatherwood, J.M.: "Cellulose degradation by Ruminococcus". Fed. Proc., 32: 1814-1818 (1973).
88. Lehninger, A.L.: "Bioquímica". 2ª Ed. Ediciones Omega, S.A. Barcelona, (1983).
89. Lenártová, V., Holovská, K., Havassy, T. and Boda, K.: "Glutamate dehydrogenase in the digestive tract of sheep". Ann. Rech. Vét., 10: 488-490 (1979).

90. Leng, R.A.: "Formation and production of volatile fatty acids in the rumen". In Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant. Edited by Phillipson, A.T., 406-421. Oriel Press Limited, Newcastle Upon Tyne, England (1970).
91. Lindberg, J.E., Ternrud, I.E. and Theander, O.: "Degradation rate and chemical composition of different types of alkali-treated straws during rumen digestion". J. Sci. Food Agric., 35: 500-506 (1984).
92. Linden, Van der, Y., Van Gylswyk, N.O. and Schwartz, H.M.: "Influence of supplementation of corn stover with corn grain on the fibrolytic bacteria in the rumen of sheep and their relation to the intake and digestion of fiber". J. Anim. Sci., 59: 772-783 (1984).
93. Llamas, G.L., Ward, J.K. and Klopfenstein, J.J.: "Tratamiento de paja de trigo con amoníaco gaseoso y su efecto en la digestibilidad in vivo con borregos y en el comportamiento de vacas gestantes", Reunión de Investigación Pecuaria en México. 326-330, México, D.F. (1982).
94. Malawer, S.J. and Powell, W.: "An improved turbidimetric analysis of polyethylene glycol utilizing an emulsifier". Gastroenterology, 53: 250-256 (1967).
95. Males, J.R. and Gaskins, C.T.: "Growth, nitrogen retention, dry matter digestibility and ruminal characteristics associated with ammoniated wheat straw diets". J. Anim. Sci., 55: 505-515 (1982).
96. Mehrez, A.Z. and Ørskov, E.R.: "A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen". J. Agric. Sci. Camb., 88: 645-650 (1977).
97. Merchen, N.R., Firkins, J.L. and Bergen, L.L.: "Effects of intake and forage level on ruminal turnover rates, bacterial protein synthesis and duodenal amino acid flows in sheep". J. Anim. Sci., 62: 216-225 (1986).
98. Mertens, D.R.: "Dietary fiber components: Relationship to the rate and extent of ruminal digestion". Fed. Proc., 36: 187-192 (1977).

99. Mertens, D.R. and Ely, L.O.: "Relationship of rate and extent of digestion to forage utilization a dynamic model evaluation". *J. Anim. Sci.*, 54: 895-905 (1982).
100. Minson, D.J. and McLeod, M.N.: "The in vitro technique its modification for estimating digestibility of large numbers of tropical pasture sample". Division of Tropical Pasture, Technical paper No. 8. Research Organization, Australia 1-5 (1972).
101. Morris, P.J. and Mowat, D.N.: "Nutritive value of ground and/or ammoniated corn stover". *Can. J. Anim. Sci.*, 60: 327-336 (1980).
102. Morrison, I.M. and Brice, R.E.: "The digestion of untreated and ammonia-treated barley straw in an artificial rumen". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 10: 229-238 (1984).
103. National Academy of Sciences. "Urea and other non protein nitrogen compounds in animal nutrition". Washington, D.C. (1976).
104. Nelson, M.L., Klopfenstein, T.J. and Britton, R.A.: "Protein supplementation of ammoniated roughages. I. Corncobs supplemented with a blood meal-corn gluten meal mixture-lambs studies". *J. Anim. Sci.*, 59: 1601-1609 (1984).
105. Nelson, M.L., Rush, I.C. and Klopfenstein, T.J.: "Protein supplementation of ammoniated roughages. II. Wheat straw supplemented with alfalfa, blood meal or soybean meal feed to wintering steers". *J. Anim. Sci.*, 61: 245-251 (1985).
106. Nelson, M.L., Klopfenstein, T.J., Britton, R.A. and Lowry, S.R.: "Protein supplementation of ammoniated roughages. III. Corncobs supplemented with a blood meal-corn gluten meal mixture-steers studies", *J. Anim. Sci.*, 61: 1567-1575 (1985).
107. N.R.C., Nutrient Requirements of Domestic Animals, No. 5. Nutrient requirements of sheep. Fifth revised Ed. National Academy of Science. National Research Council, Washington, D.C. (1975).
108. Oji, U.I. and Mowat, D.N.: "Nutritive value of steam-treated corn stover". *Can. J. Anim. Sci.*, 58: 177-181 (1978).

109. Oji, U.I. and Mowat, D.N.: "Nutritive value of thermoammoniated and steam-treated maize stover. I. Intake, digestibility and nitrogen retention". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 4: 177-186 (1979).
110. Orpin, C.G.: "The role of ciliate protozoa and fungi in the rumen digestion of plant cell walls". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 10: 121-143 (1984).
111. Ørskov, E.R.: "Capacity for digestion and effects of composition of absorbed nutrients on animal metabolism". *J. Anim. Sci.*, 46: 600-608 (1977).
112. Ørskov, E.R.: "Effects of composition of absorbed end-products of digestion on energy metabolism". In *Ruminant Digestion and Feed Evaluation*. Edited by Osbourn, D.F., Beaver, D.E. and Thomson, D.J., 11.1-11.10. Agricultural Research Council, London (1978).
113. Ørskov, E.R., DeB Hovell, F.D. y Mould, F.: "Uso de la técnica de la bolsa de nylon para la evaluación de los alimentos". *Prod. Anim. Trop.*, 5: 213-233 (1980).
114. Owens, F.N. and Isaccson, H.R.: "Ruminal microbial yields: factors influencing synthesis and bypass". *Fed. Proc.*, 36: 198-202 (1977).
115. Owens, F.N. and Bergen, W.G.: "Metabolismo de nitrógeno en animales rumiantes". Traducción de la Subsecretaría de Ganadería. Dirección General de Alimentación Animal y Recursos Forrajeros, (1983).
116. Pigden, W.J. and Heaney, D.P.: "Lignocellulose in ruminant nutrition". In: *Celluloses and their applications*, 245-261. Washington, D.C. American Chemical Society. *Adv. Chem. Ser.*, 95 (1969).
117. Pigden, W.J. y Bender, F.: "Aprovechamiento de la lignocelulosa por los rumiantes". *Rev. Mundial de Zootecnia* 4: 7-10 (1972).
118. Prigge, E.C., Baker, M.J. and Varga, G.A.: "Comparative digestion and kinetics of forage diets by steers and wethers". *J. Anim. Sci.*, 59: 237-245 (1984).
119. Quintero, R.R.: "Ingeniería bioquímica. Teoría y aplicaciones". 57-59. Editorial Alhambra Mexicana, S.A. (1981).

120. Rodríguez, H.: "The in vivo bag technique in digestibility studies". Rev. Cub. Cienc. Agríc., 2: 77-81 (1968).
121. Rounds, W., Klopfenstein, T., Waller, J. and Messermith, T.: "Influence of alkali treatments of corncobs on in vitro dry disappearance and lamb performance". J. Anim. Sci., 43: 478 (1976).
122. Saenger, P.F., Lemenager, R.P. and Hendrix, K.S.: "Anhydrous ammonia treatment of corn stover and its effects on digestibility, intake and performance of beef cattle". J. Anim. Sci., 54: 419-425 (1982).
123. Sánchez, E.J.: "Cambios en la composición química y digestibilidad de forrajes de baja calidad nutritiva mediante el uso de diversos compuestos químicos". Tec. Pec. Méx., 31: 68-74 (1976).
124. SARH. Dirección de Alimentación Animal y Recursos Forrajeros. Dirección General Normativa Pecuaria, México (1986).
125. Satter, L.D. and Roffler, K.E.: "Influence of nitrogen and carbohydrate inputs on rumen fermentation". In Recent Developments in Ruminant Nutrition. Edited by Haresign, W. and Cole, D.J.A. 115-139. Butterworths, London (1981).
126. Schneider, B.H. and Flatt, W.P.: "The evaluation of feed through digestibility experiments". The University of Georgia Press Athens (1975).
127. Shuler, M.L.: "Utilization and recycle of agricultural wastes and residues". CRC Press, INC. Boca Raton, Florida (1980).
128. Smith, R.H.: "Nitrogen metabolism in the rumen and the composition and nutritive value of nitrogen compounds entering the duodenum". In Digestion and Metabolism in the Ruminant. Edited by McDonald, I.W. and Warner, A.C. 399-415. The University of New England Publishing Unit. (1975).
129. Smith, R.H.: "Synthesis of microbial nitrogen compounds in the rumen and their subsequent digestion". J. Anim. Sci., 49: 1604 (1979).

130. Smith, T., Grigera - Naón, J.J., Broster, W.H. and Sisiter, J. W.: "Ammonia versus sodium hydroxide treatment of straw for growing cattle". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 10: 173-188 (1984).
131. Snedecor, G.W. y Cochran, W.G.: "Métodos estadísticos". CECSA, México (1978).
132. Steel, R.G.D. and Terrie, J.H.: "Principles and procedures of statistics a biometrical approach". 2nd. Ed., McGraw Hill Kega Kusha, Tokio (1980).
133. Stern, M.D. and Hoover, W.H.: "Methods for determining and factors affecting rumen microbial protein synthesis: a review". *J. Anim. Sci.*, 49: 1590-1603 (1979).
134. Stouthamer, A.H. and Bettenhausen, C.: "Utilization of energy for growth and maintenance in continuous and batch cultures of micro-organisms". *Biochimica et Biophysica Acta*. 301: 53 (1973).
135. Sundstøl, F., Coxworth, E. and Nowat, D.N.: "Improving the nutritive value of straw and other low-quality roughages by treatment with ammonia". *World Anim. Rev.*, 26: 13-21 (1978).
136. Sundstøl, F.: "Ammonia treatment of straw: methods for treatment and feeding experience in Norway". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 10: 173-188 (1984).
137. Tamminga, S.: "Measurement of microbial protein synthesis in the rumen". In *Ruminant Digestion and Feed Evaluation*. Edited by Osbourn, D.F., Beever, E.D. and Thomson, D.J., 5.1-5.11. Agricultural Research Council, London (1978).
138. Tamminga, S.: "Relation between different carbohydrates and microbial synthesis of protein". Kiel Group Seminar. Uppasala (1979).
139. Tejada, R., Murillo, B. y Cabezas, M.T.: "Paja de trigo tratada con amoníaco como sustituto del ensilaje de maíz para corderos en crecimiento". *Prod. Anim. Trop.*, 4: 173-178 (1979).
140. Thaver, R.K. and Jungermann, K.: "Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria". *Bact. Rev.*, 41: 100-180 (1977).

141. Thewis, A., Lefrancois, E., Thielemans, M.F., Thill, N. and Andre, M.: "Rate of passage of digesta in sheep". *Ann. Rech. Vét.*, 10: 163-165 (1979).
142. Thomas, P.C.: "Measurement of the flow of digesta in the post-ruminal gut". In *Ruminant Digestion and Feed Evaluation*. Edited by Osbourn, D.F., Beever, D.E. and Thomson, D.J. 3.1-3.10. Agricultural Research Council, London (1978).
143. Thornton, R.F. and Minson, D.J.: "The relationship between voluntary intake and mean apparent retention time in the rumen". *Aust. J. Agric. Res.*, 23: 871-977 (1972).
144. Tilley, M.A. and Terry, R.A.: "A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops". *J. Br. Grassld. Soc.*, 18: 104-111 (1963).
145. Van Soest, P.J. and Wine, R.H.: "Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell wall constituents". *J.A.O.A.C.* 50: 50-55 (1967).
146. Van Soest, P.J. and Wine, R.H.: "Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate". *J.A.O.A.C.* 51: 780-785 (1968).
147. Van Soest, P.J.: "The uniformity and nutritive availability of cellulose". *Fed Proc.*, 32: 1804-1808 (1973).
148. Van Soest, P.J.: "Nutritional ecology of the ruminant". O & B Books, INC. United States of America (1982).
149. Van Soest, P.J., Uden, P. and Wrick, K.F.: "Critique and evaluation of markers for use in nutrition of humans and farm and laboratory animals". *Nutr. Rep. Intern.*, 27: 17-28 (1983).
150. Van Soest, P.J., Mascarenhas, F.A. and Hartley, R.D.: "Chemical properties of fibre in relation to nutritive quality of ammonia-treated forages". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 10: 155-164 (1984).

151. Váraday, J., Boda, K., Tasenov, K.T. and Fajes, J.: "Nitrogen secretion into the digestive tract in sheep". *Ann. Rech. Vét.*, 10: 448-450 (1979).
152. Waagepetersen, J. and Vestergaard Thomsen, K.: "Effect on digestibility and nitrogen content of barley straw of different ammonia treatments". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2: 131-142 (1977).
153. Weiss, A.C., Cuggolz, J., Kohler, G.O., Walker, H.G. and Gurnet, W.N.: "Improving digestibility of straws for ruminant feed by aqueous ammonia". *J. Anim. Sci.*, 35: 109-112 (1972).
154. Wanapat, M., Sundstøl, F. and Hall, J.M.R.: "A comparison of alkali treatment methods used to improve the nutritive value of straw. II. In sacco and in vitro degradation relative to in vivo digestibility". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 14: 215-220 (1986).
155. Ward, J.K.: "Utilization of corn and grain sorghum residues in beef cow forage systems". *J. Anim. Sci.*, 46: 831-840 (1978).
156. Warner, A.C.I. and Stacy, B.D.: "The fate of water in the rumen. 2. Water balances throughout the feeding cycle in sheep". *Br. J. Nutr.*, 22: 389-410 (1968).
157. Webster, A.J.F.: "Measurement and prediction of methane production, fermentation heat and metabolism in the tissues of the ruminant gut". In *Ruminant Digestion and Feed Evaluation*. Edited by Osbourn, D.F., Beaver, D.E. and Thomson, D.J. 8.1-8.10. Agricultural Research Council, London (1978).
158. Welch, J.G.: "Rumination, particle size and passage from the rumen". *J. Anim. Sci.*, 54: 885-894 (1982).
159. Weller, R.A. and Pilgrim, A.F.: "Passage of protozoa and volatile fatty acids from the rumen of the sheep and from a continuous in vitro fermentation system". *Br. J. Nutr.*, 32: 341-351 (1974).

160. Weston, R.H. and Hogan, J.P.: "The digestion of chopped and ground roughages by sheep. I. The movement of digesta through the stomach". Austr. J. Agric. Res., 18: 789-801 (1967).
161. Wilkinson, J.M. and Prescott, H.D.: "The use of chromic oxide in the measurement of individual feed intake in cattle fed on silage and barley". Anim. Prod., 12: 71-80 (1970).
162. Williams, P.E.V.: "Digestibility studies on ammonia-treated straw". Anim. Feed Sci. Technol., 10: 213-222 (1984).
163. Wolin, M.J. and Miller, T.L.: "Interactions of microbial populations in cellulose fermentation". Fed. Proc., 42: 109-113 (1983).
164. Wood, T.M., Wilson, C.A. and Stewart, C.S.: "Preparation of cellulase from the cellulolytic anaerobic rumen bacterium Ruminococcus albus and its release from the bacterial cell wall". Biochem. J., 205: 129-137 (1982).
165. Yu, I. and Hungate, R.E.: "The extracellular cellulases of Ruminococcus albus". Ann. Rech. Vét., 10: 251-254 (1979).
166. Zorrilla, R.J.: "Valor nutritivo de pajas y rastrojos para rumiantes". 2o. Congreso Nacional de ANENA. Veracruz, México (1981).
167. Zorrilla, R.J., Owens, F.N., Horn, G.W. and McNew, R.W.: "Effect of ammoniatization of wheat straw on performance and digestion kinetics in cattle". J. Anim. Sci., 60: 814-821 (1985).