



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

**CAMBIOS EN VARIABLES PRODUCTIVAS Y RUMINALES EN
BORREGOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE
GRANO DE SORGO MÁS UN AMORTIGUADOR RUMINAL
Y UNA MEZCLA ENZIMÁTICA AMIOLÍTICA**

HÉCTOR AARÓN LEE RANGEL

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

OCTUBRE 2007

La presente tesis titulada “**CAMBIOS EN VARIABLES PRODUCTIVAS Y RUMINALES EN BORREGOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE GRANO DE SORGO MÁS UN AMORTIGUADOR RUMINAL Y UNA MEZCLA ENZIMÁTICA AMIOLÍTICA**” realizada por **HÉCTOR AARÓN LEE RANGEL** bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS
RECURSOS GENETICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA**

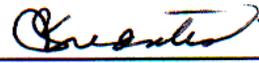
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



Ph. D. SERGIO S. GONZÁLEZ MUÑOZ

ASESOR



DRA. MARIA DEL CARMEN MONTES HORCASITAS

ASESOR



M.Sc. AUGUSTO S. TREJO GONZÁLEZ

Montecillo, Texcoco, México, 18 de octubre del 2007

CAMBIOS EN VARIABLES PRODUCTIVAS Y RUMINALES EN BORREGOS ALIMENTADOS CON UNA DIETA A BASE DE GRANO DE SORGO MÁS UN AMORTIGUADOR RUMINAL Y UNA MEZCLA ENZIMÁTICA AMILOLÍTICA

Héctor Aarón Lee Rangel, MC.
Colegio de Postgraduados, 2007.

Los rumiantes en producción intensiva reciben dietas basadas en maíz o sorgo y en ambos cereales el almidón es el principal componente. Por tanto, se hizo un experimento de crecimiento (50 d) usando 32 borregos Criollos machos (enteros; 21.4 ± 5 kg PV), alojados en jaulas metabólicas individuales, para evaluar una mezcla enzimática amilolítica α -amilasa proveniente de *Bacillus licheniformis* y glucoamilasa proveniente de *Aspergillus niger* y un amortiguador (Acid buf®). Los siguientes tratamientos se asignaron al azar a las unidades experimentales (borregos): A) sin enzima ni amortiguador (testigo); B) α -amilasa (ENMEX®; 1.3 g proteína kg^{-1} sorgo) y glucoamilasa (ENMEX®; 1.3 g proteína kg^{-1} sorgo) sin amortiguador; C) sin enzima y con amortiguador (Acid buf®, 0.85% de la dieta); D) α -amilasa ENMEX® (1.3 g proteína kg^{-1} sorgo) y glucoamilasa ENMEX® (1.3 g proteína kg^{-1} sorgo) y con amortiguador (Acid buf®, 0.85% de la dieta). El diseño experimental fue completamente al azar; el análisis de los datos se hizo mediante el procedimiento MIXED (SAS) y el de las medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Se evaluó ganancia diaria de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia, no observándose diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos. Además se hizo un ensayo metabólico (10 d adaptación; 5 d toma de muestras) usando cuatro borregos Criollos (PV 45 ± 5 kg) con cánula ruminal y duodenal, alojados en jaulas metabólicas individuales; la alimentación inicial fue *ad libitum* y luego restringida (90%) para evitar la selectividad. El diseño experimental fue un Cuadro Latino 4x4 y se usaron los tratamientos descritos para el ensayo de crecimiento. El análisis de los datos se hizo mediante el procedimiento MIXED (SAS) y el de las medias con la prueba de Tukey. No hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos para digestibilidad total y ruminal. Para la concentración de ácidos grasos volátiles, pH, lactato y nitrógeno amoniacal sólo hubo diferencias ($p \leq 0.05$) a las 1, 2 4 y 24h.

Palabras clave: Borrego, almidón, enzimática, amortiguador.

CHANGES IN PRODUCTIVE AND METABOLIC RESPONSES IN LAMBS FED A SORGHUM GRAIN DIET WITH A RUMINAL BUFFER AND AN AMILOLYTIC ENZYME MIXTURE

Héctor Aarón Lee Rangel, MC.

Colegio de Postgraduados, 2007.

Ruminants in intensive production are fed diets based on corn or sorghum and in both cereals starch is the main component. Therefore, 32 male Criollo male lambs (21.4 ± 5 kg PV) housed in individual metabolic cages, were used in a growing trial (50 d) to evaluate an enzymatic amilolytic mixture α -amylase from *Bacillus licheniformis* and glucoamylase from *Aspergillus niger* and a buffer (Acid buf®). The following treatments were randomly assigned to the experimental units (lambs): A) without enzyme or buffer (control); B) α -amylase (ENMEX®; 1.3 g protein kg⁻¹ sorghum) and glucoamylase (ENMEX®; 1.3 g protein kg⁻¹ sorghum) without buffer; C) without enzyme and with buffer (Acid buf®, 0.85% of the diet); D) α -amylase ENMEX® (1.3 g protein kg⁻¹ sorghum) and glucoamylase ENMEX® (1.3 g protein kg⁻¹ sorghum) and with buffer (Acid buf®, 0.85% of the diet). The experimental design was completely randomized; the analysis of data was performed with procedure MIXED (SAS) and that of treatments means with the Tukey ($p \leq 0.05$). The variables evaluated were average daily gain, feed intake and feed conversion and no significant differences ($p > 0.05$) were found between the treatments. In addition a metabolic trial (10 d adaptation; 5 d sampling) was done using four Criollo lambs (PV 45 ± 5 kg) fitted with ruminal and duodenal cannula and housed in individual metabolic cages. Initially feeding was *ad libitum* and then restricted (90%) to avoid selectivity. The experimental design was a 4x4 Latin Square and the treatments were those described for the growing trial. The analysis of data was performed with procedure MIXED (SAS) and that of treatments means with the Tukey test ($p \leq 0.05$). There were no significant differences ($p > 0.05$) between treatments for total and ruminal digestibility. For the volatile fatty acid concentration, pH, lactate and ammonium nitrogen there were significant differences ($p \leq 0.05$) only at 1, 2, 4 and 24 h.

Key words: Sheep, starch, enzymatic, buffer.

DEDICATORIA

A mis padres, quines me han dado amor y cariño, apoyándome en todo momento y guiándome para hacer lo mejor posible, los amo.

A mis hermanas, por ser tan fastidiosas y amorosas y darme su apoyo siempre que lo necesito, las amo.

A las personas que son la parte más sensata y que da equilibrio a la familia Andrea, Ximena y Enrique, mis sobrinos, los quiero mucho (aunque Enrique solo me golpea y no sabe leer se la dedico).

A mi familia que no esta aquí pero esta al pendiente en todo momento.

A los amigos que aunque son muchos y no los puedo mencionar saben el aprecio que les tengo, por haberme apoyado en el trabajo de investigación sin tener idea pero siempre con la mejor disposición

A Julio (q.e.p.d.) amigo de toda la vida y quien siempre me recordó que debo esforzarme para ser mejor en todo. Por haber sido mí amigo, gracias.

A Vicky por estar conmigo, darme su amor y apoyo, siendo una parte importante en este momento de mi vida. Te amo.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico para la realización de mis estudios de maestría.

Al Colegio de Postgraduados a través de la Orientación de Ganadería, por ser la institución donde realice mis estudios.

Al Tec. Andrés Lee, por su invaluable apoyo desde la planeación, desarrollo y culminación de este trabajo.

Al Dr. Germán Mendoza, por el apoyo y amistad desde la licenciatura hasta este momento, siempre comprometiéndose y dando pautas para nuevas cosas, esto no termina aquí.

Al Dr. Sergio González, por su disposición a que las cosas salgan mejor, por sus consejos y por su paciencia.

A la Dra. Carmen Montes, por su disposición a trabajar y por el tiempo que pase en su laboratorio.

Al M.C. Augusto Trejo, por el ánimo y las ideas novedosas para trabajos de investigación de este tipo.

Al Dr. Gustavo Ramírez Valverde, por el apoyo en el análisis estadístico y atinadas observaciones.

A los Doctores del CP que participaron en mi formación académica.

A mis compañeros y amigos del CP.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
REVISION DE LITERATURA.....	3
Producción de ovinos en México.....	3
Sorgo en la alimentación de especies pecuarias.....	3
Grano de sorgo.....	4
Importancia del procesamiento de los granos.....	5
Digestión del almidón en el rumen.....	7
Efecto del consumo sobre la ecología ruminal.....	9
Acidosis ruminal.....	10
Acidosis subaguda.....	11
Acidosis aguda.....	12
Enzimas amilolíticas.....	12
Glucoamilasa fungal de <i>Aspergillus niger</i> (Diazyme L-200).....	13
La α-amilasa bacterial de <i>Bacillus lincheniformis</i> (<i>taka-therm</i>, L-340).....	14
Amortiguadores ruminales.....	14
MATERIALES Y METODOS.....	16
ENSAYO PRODUCTIVO.....	16
Localización.....	16
Animales.....	16
Tratamientos.....	16
Análisis de laboratorio.....	17
Variables de respuesta.....	17
Diseño experimental.....	18
ENSAYO METABÓLICO.....	18
Localización.....	18
Animales.....	19
Variables de respuesta.....	19

Diseño experimental.....	20
RESULTADOS.....	22
ENSAYO PRODUCTIVO.....	22
Consumo de materia seca.....	22
Ganancia de peso.....	22
Conversión alimenticia.....	23
DISCUSIÓN.....	24
Consumo de materia seca.....	24
Ganancia diaria de peso (GDP).....	24
Conversión alimenticia.....	25
RESULTADOS.....	25
ENSAYO METABOLICO.....	25
Digestibilidad.....	25
Ácidos grasos volátiles (AGV´s).....	27
Lactato.....	28
pH.....	28
Nitrógeno Amoniacal (N-NH ₃).....	30
DISCUSIÓN.....	31
Digestibilidad.....	31
Ácidos Grasos Volátiles (AGV´s).....	32
Lactato.....	33
pH.....	33
Nitrogeno Amoniacal (N-NH ₃).....	34
CONCLUSIONES.....	34
LITERATURA CITADA.....	35

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Ingredientes y composición química de las dietas.....	21
Cuadro 2. Consumo de materia seca (MS) por periodos y promedio de borregos alimentados con una dieta a base de grano de sorgo con una mezcla enzimática amilolítica (Enzima) y un amortiguador.....	22
Cuadro 3. Ganancia de peso por periodos y promedio de borregos alimentados con una dieta a base de grano de sorgo con una mezcla enzimática amilolítica (Enzima) y un amortiguador.....	23
Cuadro 4. Conversión Alimenticia por periodos y promedio de borregos alimentados con una dieta a base de grano de sorgo con una mezcla enzimática amilolítica (Enzima) y un amortiguador.....	23
Cuadro 5. Digestibilidad total y ruminal de materia seca, de almidón y de materia orgánica en animales alimentados <i>ad libitum</i>	26
Cuadro 6. Digestibilidad total y ruminal de materia seca, almidón y materia orgánica de animales con alimentación restringida.....	26
Cuadro 7. Medias de mínimos cuadrados en porcentaje molar de ácido acético, propiónico, butírico, relación de ácido acético: propiónico y lactato en rumen de borregos alimentados <i>ad libitum</i>	27
Cuadro 8. Medias de mínimos cuadrados en porcentaje molar de ácido acético, propiónico, butírico, relación de ácido acético: propiónico y lactato en rumen de borregos con alimentación restringida.....	28
Cuadro 9. Medias de mínimos cuadrados del pH ruminal en borregos alimentados <i>ad libitum</i> con dieta a base de grano de sorgo con una mezcla enzimática amilolítica y amortiguador ruminal.....	29
Cuadro 10. Medias de mínimos cuadrados del pH ruminal en borregos con alimentación restringida con dieta a base de grano de sorgo con una mezcla enzimática amilolítica y amortiguador ruminal.....	29

Cuadro 11. Medias de mínimos cuadrados mg L^{-1} del NH_3 ruminal en borregos alimentados <i>ad libitum</i> con una dieta a base de grano de sorgo con una mezcla enzimática amilolítica y amortiguador ruminal.....	30
Cuadro 12. Medias de mínimos cuadrados mg L^{-1} del NH_3 ruminal en borregos alimentados con una dieta restringida a base de grano de sorgo con una mezcla enzimática amilolítica y amortiguador ruminal.....	30

INTRODUCCIÓN

El sorgo es un cultivo de gran importancia en el desarrollo de las actividades agropecuarias en México y su producción ocupa un lugar relevante en el desempeño del subsector agroindustrial y del pecuario. Así, ocupa el primer lugar en la utilización en la industria de alimentos balanceados para especies pecuarias (SAGARPA, 2003).

El constituyente principal de los cereales es el almidón cuya tasa de degradación en el rumen depende del tipo de grano, variedad, procesamiento, pH ruminal y tipo de dieta (Orskov, 1986; Theurer, 1986). Por ejemplo, en diversas variedades de sorgo se han encontrado digestibilidades de 50 a 80% (McGinty y Riggs, 1968; Miller *et al.*, 1972; Noziere *et al.*, 1997, Huntington, 2006). Dicha variación se debe a que la cantidad de energía disponible dependerá de la degradabilidad del almidón (Briton y Stock, 1986). Se han desarrollado procesos físicos: el quebrado, rolado y hojueleado, y químicos como la adición de enzimas o álcalis, a fin de incrementar la tasa de digestión del almidón y el valor energético de los granos (Beauchemin *et al.*, 2001). Además, el uso de los granos incrementa la densidad energética de la dieta, lo cual optimizará la producción en un sistema bien manejado según la cantidad de almidón convertido a producto animal (Huntington, 1996). Pero el uso de enzimas exógenas para mejorar la degradabilidad de los alimentos en rumiantes ha tenido poca aceptación, debido a su escasa capacidad para mantenerse activas en el ambiente ruminal (Rojo 2001).

En rumiantes, el síndrome de la acidosis láctica se asocia con una disminución del pH ruminal y un incremento en la concentración del ácido láctico en el rumen, lo cual se debe al uso de dietas altas en carbohidratos de rápida fermentación ruminal o forrajes bajos en fibra efectiva, o ambos. El pH está directamente relacionado con la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) producido por las bacterias del rumen. Además, está en función de la absorción de los AGV, así como el flujo del agua a través de la pared ruminal, el flujo de la saliva y sus amortiguadores, la acidez

del alimento y el flujo de agua a través del omaso hacia el tubo digestivo posterior (Le Ruyet *et al.*, 1992). Los rumiantes tienen tres principales medios para amortiguar los ácidos ingeridos o producidos por los microorganismos ruminales: 1) los amortiguadores intrínsecos de la saliva; 2) la capacidad amortiguadora de los alimentos ingeridos; 3) la adición de aditivos amortiguadores (Erdman, 1988). Un amortiguador se define como una sal o ácido débil u óxido o hidróxido, el cual neutraliza los ácidos en los alimentos o producidos durante la digestión y metabolismo de los nutrientes, además de presentar una resistencia efectiva a cambios de pH (Montañez, 2004).

Considerando lo expuesto, el objetivo del presente estudio fue evaluar los cambios en variables ruminales, así como en el consumo, digestibilidad y eficiencia de utilización de una dieta alta en grano de sorgo tratado con una mezcla de α -amilasa y glucoamilasa con o sin la adición de un amortiguador ruminal.

REVISIÓN DE LITERATURA

Producción de ovinos en México

En la actualidad, la ovinocultura nacional no es capaz de satisfacer la cada vez más grande demanda de carne de borrego que se da en México. Los modelos productivos prevalecientes, en su gran mayoría son rebaños con índices de producción muy deficientes y con poco interés de los productores en constituir una empresa económicamente redituable, que favorece la importación masiva de ganado ovino. La orientación actual de la ovinocultura mexicana es primordialmente hacia la producción de carne, obteniéndose altos precios en pie y canal en comparación a otras especies pecuarias (Cuellar, 2003).

Los sistemas de producción de ovinos en México, los cuales van desde los sistemas extensivos, basados en el pastoreo con mínimo uso de suplementos, donde no se lleva ningún tipo de control zootécnico, estos presentan serias limitaciones para alcanzar niveles de productividad que sean competitivos y acordes con las épocas modernas; entre estas limitaciones se incluye la falta de consideración de enfoques de tipo integral y de sostenibilidad (Heitschmidt et al 1996), así como la falta de tecnificación, hasta sistemas intensivos, donde los borregos son engordados con dietas basadas en granos (Mendoza, 2007).

Durante los últimos años se ha incrementado el engorde de borregos con alimentos concentrados (Sánchez 2001), con los que aumenta el riesgo de que se presenten problemas metabólicos como la acidosis subaguda y la presencia de cálculos urinarios (Mendoza, 2007).

Sorgo en la alimentación de especies pecuarias

El sorgo constituye un cultivo de gran importancia en el desarrollo de las actividades agropecuarias del país. La producción ocupa un lugar relevante en el

desempeño mostrado por el sector (agropecuaria) en los últimos años ya que es un factor dinamizador del crecimiento tanto del subsector pecuario como de la agroindustria. (SAGARPA, 2003).

El sorgo de grano es considerado por los productores pecuarios como un sustituto del maíz en los usos forrajeros, ya que se destina a la preparación de alimentos balanceados, como alimento directo para aves, cerdos y bovinos, fuente de materia prima para la obtención de harinas de almidón y aceites, así como también en menor proporción, en aprovechamiento de rastrojo para la alimentación bovina y equina (SAGARPA, 2003).

En la formulación de dietas para no rumiantes, el sorgo constituye más del 60%, lo que significa que es la materia prima más importante en una fábrica de alimentos balanceados (Canacintra, 2004).

Grano de sorgo

El elevado contenido de carbohidratos en el grano de sorgo representa una buena fuente de energía; el sorgo aporta aproximadamente 77% de almidón (Huntington, 1997), pero disminuye al aumentar el contenido de taninos en la pared celular. Para 10 variedades de sorgo se encontró 63.9% a 79.62% de almidón, 3.5% a 7.43% de carbohidratos solubles y 1.8% a 4.22% de proteína insoluble (Sosa, 1984). En 33 variedades de sorgo el contenido de almidón fue 55.47% a 81.79%, fibra detergente neutro 7.40% a 16.41% y 9.70% a 18.03% de proteína. La digestibilidad *in vitro* del almidón con una glucoamilasa de *Aspergillus niger* fue 63.61 a 81.48% debido a las propiedades físico-químicas del grano, y al usar líquido ruminal fue 39.03% a 75.96% (Durán, 1998).

El grano de sorgo tiene una capa (endospermo córneo y periférico) constituida de gránulos de almidón fijados a una matriz proteínica, debajo de la cual se encuentra el endospermo harinoso. Este contiene la mayor concentración de

gránulos de almidón susceptibles a fuerzas externas como la digestión o procesamiento del grano y se compone principalmente de amilopectina y amilosa, esta última representa 10 a 20% del almidón (Nigam *et al.*, 1995). La amilosa es menos digestible por la extensa cantidad de enlaces de hidrógeno en las hélices de su estructura (Moran, 1982). Las variedades de sorgos híbridos con una textura harinosa del endospermo tienen mayor tasa y extensión de la digestión *in vitro* del almidón y una tasa más rápida de desaparición del almidón (Huntington, 1996).

Importancia del procesamiento de los granos

El mayor almacén de carbohidratos en los granos es el almidón, este usualmente existe en gránulos insolubles resistentes a la digestión (Leeson y Summers, 2001). El valor nutritivo de los granos de cereal puede alterarse por el tipo de grano (especie), especie animal, manejo y procesamiento (Zinn *et al.*, 2007)

El objetivo principal del procesamiento de los granos es facilitar la digestión del almidón y de la proteína por el aparato digestivo. En las estructuras de un grano entero, el pericarpio y el endospermo cristalino limitan la penetración del agua, evitando la solubilidad del almidón, los granos de cereal contienen del 57 al 77% de almidón (Huntington, 2006), representado una fuente importante de energía. Por tanto, el procesamiento consiste en romper estas estructuras para hacer más accesibles los nutrientes del grano. Los rumiantes tienen una capacidad limitada para digerir almidón en el intestino delgado, debido a una insuficiente producción de las enzimas pancreática alfa-amilasa y la alfa-1-4 glucosidasa de la pared intestinal. La absorción intestinal neta de glucosa es negativa o cercana a cero (Kreikemeier y Harmon, 1995).

Un factor influyente en la disponibilidad del almidón es el grado de procesamiento de los granos y, por tanto, las características físico-químicas del grano. La mayoría de los carbohidratos son rápidamente digestibles, aunque la lignina y celulosa no lo sean (Leeson y Summers, 2001). Beauchemin *et al.* (1999)

señalan que el maíz se procesa con el propósito de liberar el almidón de la matriz proteínica a la cual está fuertemente adherida para permitir su digestión. El almidón de la cebada se encuentra en una cáscara muy indigestible dentro de una matriz amorfa en el endospermo pero su digestión ruminal es mucho más rápida que el almidón del maíz, por lo cual la cebada se muele finamente para romper esa cáscara, aunque pueden ocurrir trastornos metabólicos debido a la velocidad de digestión que tendrá entonces el almidón de la cebada.

Para un grano y un método de procesamiento específico, la fuente de forraje y humedad pueden influenciar significativamente la tasa de ganancia y energía metabolizable del grano, probablemente debido a errores de manejo, adaptabilidad de la dieta y sitio de extensión de la digestión del almidón (Owens *et al.* 1995). Aunque, Svihus *et al.* (2004) no encontraron diferencias en la digestibilidad del almidón en dietas a base de trigo antes y después del peletizado.

Offner *et al.* (2003) encontraron que la digestión ruminal del maíz y sorgo se incrementa mas con el proceso de extrusión comparado con el paletizado. Esto puede ser esperado dado el alto contenido de agua, temperatura y tiempo de residencia, lo cual causa una mayor gelatinización durante el proceso de extrusión.

Para mejorar la digestión del almidón se ha propuesto evaluar las enzimas amilolíticas utilizadas para fines industriales como la licuefacción y sacarificación del almidón para la elaboración de jarabes; esta evaluación se hace en estudios *in vitro* e *in vivo* usando dichas enzimas como aditivos en nutrientes energéticos de la dieta para rumiantes (Rojo 2001).

En vacas secas alimentadas con paja de trigo, heno y cebada molida (10:90:0, 10:60:30 y 10:30:60), un factor determinante en la digestión ruminal del almidón fue el tiempo de retención de partículas, el cual varía de acuerdo al procesamiento del grano Noziere *et al.* (1996). En novillos con cánula ruminal se observó que la digestión del sorgo aumentó al incrementar la proporción del sorgo rolado en seco,

pero una mezcla de maíz húmedo y sorgo rolado en seco no cambió la digestión ruminal del almidón (Mendoza *et al.*, 1998).

Digestión del almidón en el rumen

La tasa y extensión de la digestión del almidón en el rumen está determinada por la relación intrínseca de varios factores: la fuente del almidón, la composición de la dieta, la cantidad de alimento consumido por unidad y tiempo, las alteraciones mecánicas (grado de procesamiento y masticación) y químicas (grado de hidratación y gelatinización), así como por la adaptación de los microorganismos ruminales a la dieta. Los factores para controlar la tasa y extensión de la digestión del almidón son el manejo del consumo de alimento, el procesamiento del grano (molido, rolado en seco o en vapor) y el uso de aditivos alimenticios (Owens *et al.*, 1997). La estructura química de los gránulos de almidón y su interacción con las moléculas de proteína afectan la tasa de extensión y fermentación ruminal (Philippeau *et al.*, 2000)

La hidrólisis del almidón en el rumen es el resultado de la acción de diversas amilasas microbianas que producen oligosacáridos, maltotriosa, maltosa y pequeñas cantidades de glucosa (Cotta, 1988). Las bacterias y protozoarios en el rumen sintetizan amilasas para hidrolizar los gránulos de almidón. Es posible que el mecanismo de adhesión por las bacterias a el almidón se deba a algunas propiedades de la amilasa (Mendoza, 1992), aunque la adhesión microbial aun no se entiende al describir la fermentación ruminal (Huntington *et al.*, 2006)

Por su número predominante y diversidad metabólica, las bacterias ruminales son las responsables de la mayor parte de la digestión del alimento en el rumen (Cheng *et al.*, 1991). Determinadas especies bacterianas pueden digerir el almidón, aunque individualmente no producen todas las enzimas requeridas para digerir los granos de cereales; más bien, las especies bacterianas forman un complejo consorcio microbiano digestivo sobre la superficie del grano para digerirlo (McAllister *et al.*, 1994).

La α -amilasa y glucoamilasa son muy importantes en la hidrólisis del almidón en el rumen. La primera, una endohidrolasa, actúa en los enlaces glucosídicos α -1,4 de la amilasa y amilopectina, produciendo oligosacáridos de bajo peso molecular.

La glucoamilasa es una exohidrolasa que rompe enlaces α -1,4 del grupo final del almidón y de los fragmentos del almidón producidos por la hidrólisis de amilasa. Esta enzima también puede romper enlaces α -1,6 aunque en forma limitada (Mendoza y Ricalde, 1993).

La fermentación del almidón en el rumen es llevado a cabo por la microflora residente; la tasa de fermentación ruminal es variable e influenciada por el tipo de grano, el método de procesamiento, el tipo de dieta y la especie de rumiante (Theurer, 1986; Orskov, 1986). Asimismo, la tasa y extensión de la digestión del almidón puede cambiar según la composición de los ácidos producidos en la fermentación microbiana, el pH ruminal, la cantidad de almidón disponible para la digestión, y la forma química y física del almidón (Theurer, 1986; Orskov, 1986). La población microbiana, el pH ruminal y perfil de ácidos orgánicos varían en respuesta a la fuente de almidón (Schwartzkopf-Genswein *et al.*, 2003). Estos factores alteran la eficiencia de utilización del almidón y la conversión alimenticia por el rumiante.

Entre 18 y 42% del almidón de granos de maíz y sorgo puede llegar al intestino delgado para su digestión (Owens *et al.*, 1986). Eso está en función de la tasa de fermentación ruminal de los granos que si es lenta puede causar digestión total incompleta del almidón en el tubo digestivo, pero si la tasa de fermentación es rápida y el consumo del alimento es alto, la capacidad buffer y de absorción puede no compensar la gran cantidad de ácidos producidos en la fermentación ruminal (Theurer, 1986; Owens *et al.*, 1986).

Entre consumo de alimento y fuente de almidón (maíz, sorgo o avena), se predice una relación lineal entre el consumo de almidón y la digestibilidad ruminal aparente del almidón (Harmon *et al.* 2004)

Efecto del consumo sobre la ecología ruminal

El impacto del consumo sobre la ecología ruminal probablemente se incrementa durante la transición de una dieta basada en forraje a una a base de grano, por lo que las bacterias fibrolíticas prevalecen menos mientras que las bacterias amilolíticas aumentan (Tajima *et al.*, 2001). Mackie y Gilchrist (1978) señalan que el número de bacterias celulolíticas en el rumen no cambia durante una adaptación a una dieta a base de forraje a una con 70% de maíz. Klieve *et al.* (2002) reportan que la población ruminal de *Streptococcus bovis* permaneció relativamente constante después que los novillos fueron adaptados de una dieta a base de forraje a una a base de grano. El número de bacterias celulolíticas típicamente disminuye y las bacterias amilolíticas crece cuando el consumo de carbohidratos no estructurales produce un pH ruminal menor a 5.5 (Allison *et al.*, 1975).

El desarrollo de la acidosis aguda y subaguda presenta complejas interacciones entre consumo, composición de la dieta, microorganismos ruminales y animal (Schwartzkopf-Genswein *et al.*, 2003). El establecimiento de una microflora estable durante el tránsito de un forraje a una dieta concentrada no es inmediato en la dieta. La introducción de almidón altamente fermentable en las dietas incrementa la disponibilidad de glucosa libre y estimula el crecimiento de bacterias ruminales por la producción de ácidos grasos volátiles y disminuye el pH ruminal (Owens, 1998). La competencia por el sustrato normalmente modera la tasa de crecimiento de las bacterias que producen el ácido láctico y la acumulación es acortada por un incremento en el número de bacterias que utilizan ácido láctico (*Selenomonas spp*, *Anaerovibrio spp*, *Megasphaera elsdenii* y *Propionibacterium spp*), y protozoarios (*Entodinium spp*) en el rumen (Ghorbani *et al.*, 2002).

El resultado de la abundancia de intermediarios glicolíticos (piruvato, fructuosa 1-6 difosfato) promueve un cambio en el metabolismo de *S. bovis* desde la producción de acetato hasta la de lactato (Russell y Hino, 1985). El ácido láctico ($pK_a=3.1$) es un ácido 10 veces más fuerte que los ácidos grasos volátiles

normalmente producidos en el rumen ($pK_a=4.8$), por lo que produce una caída en el pH. Las bacterias celulolíticas y protozoarios son inhibidos a un pH menor de 6 (Williams y Coleman, 1992).

Acidosis ruminal

La temperatura del rumen oscila de 38 a 41°C y está controlada por mecanismos termorreguladores. En el líquido ruminal hay una concentración de AGV aproximada de 100-150 $\mu\text{mol mL}^{-1}$: acetato (60%), propionato (20%), butirato (15%) y, además, 5% de otros ácidos incluyendo isobutirato, isovalerato y valerato; también hay amoníaco ($<92 \mu\text{mol mL}^{-1}$) y ácido láctico ($<7 \mu\text{mol mL}^{-1}$) (Wallace, 1993).

El pH ruminal normalmente oscila entre 5.0 y 7.0; luego de la ingestión de los alimentos hay una disminución del pH, cuya velocidad y magnitud depende del tipo de dieta (Owens y Goetsch, 1988). Estos cambios reflejan principalmente las cantidades de ácidos orgánicos acumulados y la producción de saliva (Church, 1996).

La acidosis ruminal causa un importante impacto en la economía pecuaria, debido a las lesiones que produce en los animales y la consecuente disminución de la producción de carne y leche. La acidosis se define como la disminución en la concentración de álcalis (falta de bases) de los fluidos corporales respecto al contenido ácido (ión hidrógeno), o como un estado de acidez patológicamente elevada de la sangre. El pH de los fluidos corporales es amortiguado por el bicarbonato y puede o no disminuir durante la acidosis, dependiendo del grado en que el bicarbonato pueda compensarlo (Candanosa *et al.*, 2001).

En bovinos en síndrome de la acidosis láctica se asocia con una disminución del pH ruminal y un incremento en la concentración de ácido láctico en el rumen, debido al uso de dietas altas en carbohidratos de rápida fermentación ruminal o forrajes bajos en fibra efectiva, o ambos (Mendoza *et al.*, 1998).

La acidosis crónica o subclínica es un problema común y económicamente importante en rumiantes; en Estados Unidos la pérdida económica anual alcanza hasta mil millones de dólares. En México ocasiona grandes pérdidas económicas en la producción lechera, la cual disminuye considerablemente (Donovan, 1997). La acidosis crónica presenta signos específicos que, detectados a tiempo, pueden ser tratados directamente. Los síntomas son insidiosos y difíciles de detectar; comúnmente son confundidos y se relacionan con otros problemas.

El principal signo es la falta de consumo de alimento y disminución de la producción de leche, reducción en el porcentaje de grasa de leche, pobre condición corporal a pesar de tener un consumo de energía adecuado, alta selección de alimento, diarrea y laminitis (Garrett *et al.*, 1999).

Acidosis subaguda

El principal responsable en la reducción del consumo de alimento y del rendimiento en los rumiantes es la acidosis subaguda. Algunos signos de la presencia de este síndrome pueden ser jadeo, salivación excesiva y diarrea. Los bovinos alojados en corral experimentan acidosis subaguda al menos una vez durante el periodo de engorda (Britton y Stock, 1986). Las dietas consumidas por bovinos estabulados típicamente contienen más grano y menos fibra. Estas dietas de alta calidad son rápidamente digeridas en el rumen, lo cual lleva a altas concentraciones de ácidos grasos volátiles en el fluido ruminal y bajo pH (Beauchemin, 2001).

El nivel de forraje es un factor extremadamente importante en la presencia de acidosis. En general, a medida que aumenta el nivel de fibra, la incidencia de acidosis disminuye lo cual se debe a una estimulación de la rumia con lo cual se incrementa la producción de saliva. La saliva contiene bicarbonato que ayuda a amortiguar las condiciones acidóticas en el rumen y a reducir la acidosis (Britton y Stock, 1986).

Acidosis aguda

La acidosis aguda resulta en diversas enfermedades, las funciones fisiológicas se pueden interrumpir significativamente y ocurrir la muerte. Esta acidosis está caracterizada por una drástica reducción en el pH ruminal (≤ 5.0), un rápido incremento en la concentración de ácido láctico y de los ácidos grasos volátiles y una disminución en los protozoarios (Nagel *et al.*, 1992).

Durante la acidosis aguda el flujo de la sangre al tubo gastrointestinal disminuye y, por tanto, se reduce la absorción de los ácidos orgánicos en el rumen (Huber, 1971). Una prolongada exposición del epitelio ruminal a altas concentraciones de ácido puede resultar en paraquetosis, lo cual reduce la capacidad de absorción de los ácidos orgánicos (Nocek *et al.*, 1984). Aunque estos últimos se acumulen en el rumen, el lactato es el ácido predominante. La producción metabólica del D-lactato llega a ser limitante en el desarrollo de la acidosis aguda, debido a que éste se metaboliza más lento que el L-lactato (Giesecke *et al.*, 1980)

Enzimas amilolíticas

La actividad amilolítica de los microorganismos ruminales se da principalmente por acción de enzimas extracelulares como las provenientes de *Streptococcus bovis*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminobacter amylophilus*, *Prevotella ruminicola* y *Selenomonas ruminantium*, que en cocultivo manifiestan su máximo potencial para digerir el almidón (Cotta, 1988). Aún así, la digestión ruminal de granos como el sorgo puede ser sólo de 50%, desaprovechando una cantidad importante de energía (Britton y Stock, 1986).

Las condiciones de temperatura, pH, solución, mezcla y buffer, entre otras, permiten la acción de las enzimas amilolíticas extracelulares de las bacterias ruminales, por lo que existe la posibilidad de que otras enzimas exógenas puedan actuar al adicionarse al rumen. El uso y conocimiento en tecnología de enzimas

amilolíticas se ha desarrollado notablemente, destacando las provenientes de bacterias del genero *Bacillus* (Castro *et al.*, 1993; Declerk *et al.*, 1997), particularmente *Bacillus licheniformis*, que catabolizan un intervalo amplio de carbohidratos (Shariati *et al.*, 1995; Bose y Das, 1996). A pesar de que las enzimas amilolíticas han recibido poca atención, el desempeño productivo puede mejorarse asperjando el alimento con una mezcla de enzimas exógenas con actividad proteolítica, amilolítica y celulolítica (Romero *et al.*, 1992).

Glucoamilasa fungal de *Aspergillus niger* (Diazyme L-200)

La glucoamilasa fungal de *Aspergillus niger* es una exoglucosidasa que cataliza la hidrólisis de los enlaces α - 1,4 glucosídicos y α - 1,6 glucosídicos, aunque tiene mayor efecto en el primero. Esta glucoamilasa remueve las unidades de glucosa desde el grupo final no reductor del polímero de glucosa y dextrinas. La tasa de esta hidrólisis está en función de la extensión de la molécula de almidón; oligosacáridos de alto peso molecular son hidrolizados a una tasa mas rápida que aquellos de peso molecular más bajo. Sus propiedades físicas son: líquido no viscoso, color ámbar, completamente miscible en agua y densidad de 1.0 a 1.25 g mL⁻¹. No necesita activadores o cofactores para su máxima actividad. Esta enzima puede hidrolizar almidón y dextrinas en un pH de 3.0 a 5.0; el intervalo óptimo de temperatura es de 58 a 65 °C. Las concentraciones bajas de sustrato son convertidas más eficientemente que las altas y disminuye la producción de glucosa con el incremento del mismo. Esta enzima puede tener concentraciones traza de hemicelulasas y celulasas y presenta una pérdida menor al 10% cuando está mas de tres meses a temperatura ambiente. Actualmente se utiliza en la producción de glucosa que sirva como medio de cultivo o nutrientes para preparar ácido cítrico, ácido glucónico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido itaconico, vitaminas como riboflavina y B12, ciertos antibióticos y otros productos. Asimismo, se puede utilizar con la malta para producir alcohol así como producción de vinagre y levaduras para propósitos industriales y alimenticios (Solyvay Enzymes, 1992a).

La α -amilasa bacteriana de *Bacillus lincheniformis* (taka-therm, L-340)

La α -amilasa *Bacillus lincheniformis* bacteriana (α -1,4 D-Glucano hidrolasa) es una endoamilasa capaz de hidrolizar aleatoriamente los enlaces α -1,4 glucosídicos del almidón, caracterizándose por su acción dextrinizante, produciendo inicialmente compuestos de hasta cinco moléculas de glucosa, aunque la hidrólisis prolongada con esta enzima resulta en la formación de pequeñas cantidades de glucosa y maltosa. Es la α -amilasa más termoestable de todos los géneros de *Bacillus* y su intervalo óptimo de temperatura para su máxima actividad es de 90 a 95°C, en un pH de 5.5 a 8.0. Esta α -amilasa es una metaloenzima con Ca, el cual se requiere como cofactor para completar su máxima estabilidad. Los iones de Ca no están involucrados en la hidrólisis del almidón pero estabilizan la estructura de la molécula de proteína para mantener una configuración enzimática activa. Con la presencia de suficientes (50 a 75 mg L⁻¹) iones de calcio, esta α -amilasa podría resistir la desnaturalización a temperaturas y pH extremos. Algunos cereales (maíz, arroz, malta y cebada) contienen ácidos orgánicos, fosfatos y otros complejos de calcio que podrían disminuir la disponibilidad de los iones de Ca, por lo que se recomienda la adición de 100 a 200 mg L⁻¹ para asegurar la estabilidad enzimática. Otros iones metálicos (Cu, Fe, Co) pueden inhibir moderadamente su actividad enzimática, aunque Al y Zn la inhiben fuertemente y el EDTA la afecta negativamente. Esta α -amilasa es de color café claro, libre de aroma, soluble en agua, con una densidad de 1.15 a 1.25 g mL⁻¹ (Solvay Enzymes, 1992b).

Amortiguadores ruminales

En dietas altas en carbohidratos de rápida fermentación y bajas en fibra, hay diversos trastornos en el ambiente ruminal los cuales disminuyen la producción (Montañez, 2004). Dentro de los trastornos producidos por estas dietas el pH es un problema, porque su disminución contrarresta la actividad de los microorganismos ruminales, causando una reducción en la actividad de las bacterias celulolíticas y

disminuyendo la digestión de la fibra; en casos extremos una acidosis ruminal causa la muerte del animal (Owens *et al.*, 1998).

Un amortiguador es un compuesto que cuando se encuentra presente en solución acuosa, causa una resistencia efectiva al cambio en pH de la solución cuando se le agrega un ácido o una base fuerte. Para que un componente actúe como amortiguador en condiciones fisiológicas debe presentar las siguientes características: 1) soluble en agua; 2) un ácido débil; 3) base o sal del mismo; 4) su constante de equilibrio (pK_a) debe ser cercano al pH fisiológico del sistema que será amortiguado (Erdman, 1988). Los amortiguadores tienen un potencial limitado en dietas con 90% de grano y han sido poco efectivos en dietas con 50 al 60% de concentrado.

Los aditivos empleados con mayor frecuencia para reducir problemas de acidosis son los ionóforos, antibióticos y sustancias amortiguadoras (Candanosa *et al.*, 2001). Los amortiguadores pueden afectar las condiciones ruminales al mejorar el pH o por un incremento en la resistencia del fluido ruminal a cambios de pH. Sin embargo, la capacidad amortiguadora de estos compuestos depende de sus características fisicoquímicas; por ejemplo, algunos amortiguadores se disuelven inmediatamente al entrar a rumen, mientras que otros lo hacen lentamente (Montañez, 2004).

MATERIALES Y MÉTODOS

ENSAYO PRODUCTIVO

Localización

El presente estudio se realizó en la unidad metabólica de la granja experimental del Colegio de Postgraduados, Montecillo, México, en el km 36.5 de la carretera México-Texcoco, en Montecillo, Estado de México, a una altitud de 2240 m. El clima de la región es (Cw0) (w) b (i') (g), que corresponde a un templado con lluvias en verano, época seca en invierno y una temperatura promedio anual de 15.2 °C. La precipitación media anual es 636.5 mm.

Animales

Se utilizaron 32 borregos Criollos machos enteros, 21.4 ± 5 kg PV y con una edad aproximada de tres meses, los cuales estuvieron en una engorda intensiva. Al inicio del experimento los borregos se identificaron, pesaron y ubicaron al azar en jaulas metabólicas individuales con comedero y bebedero integrado, y recibieron vacunas, un antiparasitario (Ivermectina), y vitaminas (Vigantol ADE).

La adaptación a la dieta fue gradual durante 10 d: 3 d una proporción de 60% de la dieta y 40% forraje; los siguientes 75% concentrado y 25% forraje; 90% concentrado y 10 % forraje; después, 100% concentrado. En este periodo se midió el consumo voluntario y posteriormente se asignó un 10% más con respecto del día anterior.

Tratamientos

Los tratamientos fueron los siguientes: A) sin enzima ni amortiguador (Testigo); B) grano tratado con α -amilasa (ENMEX®, 1.3 g proteína kg⁻¹ sorgo) y

glucoamilasa (ENMEX®, 1.3 g proteína kg⁻¹ sorgo) sin amortiguador ruminal; C) sin enzima y con amortiguador (Acid buf®, 0.85% de la dieta); D) con mezcla de α-amilasa ENMEX® (1.3 g proteína kg⁻¹ sorgo) y glucoamilasa ENMEX® (1.3 g proteína kg⁻¹ sorgo) y con amortiguador ruminal (Acid buf®, 0.85% de la dieta). Las dietas experimentales y su composición química se muestran en el Cuadro 1.

El producto enzimático al estar en una presentación líquida se diluyó en agua en una relación 3:1 (producto: agua) para asperjarlo de manera uniforme sobre el sorgo molido. La aspersion se realizó manualmente sobre mantas en un lugar ventilado y seco (bodega) y se realizó cada periodo (14 días).

Análisis de laboratorio

En la dieta experimental se determinó MS (AOAC, 1990), cenizas (AOAC, 1990), nitrógeno total por el método de microkjendahl (AOAC, 1990), fibra detergente neutro (FDN) (Van Soest *et al.*, 1991) y almidón (Herrera *et al.*, 1990).

Variables de respuesta

Consumo de alimento (CMS). Diariamente se registró el consumo de alimento por diferencia entre alimento ofrecido y rechazado. Para cada periodo (14 d) se calculó el promedio teniendo un reporte de todo el experimento.

Ganancia diaria de peso (GDP). Los borregos se pesaron cada 14 d por la mañana antes de ofrecer el alimento. La GDP se calculó como la diferencia entre el peso inicial y el peso final entre el número de días transcurridos.

Conversión alimenticia (CA). Se calculó al dividir el consumo de materia seca entre la ganancia de peso de cada periodo (14 d).

Diseño experimental

El diseño experimental fue completamente al azar y los datos de ganancia de peso, conversión alimenticia y consumo de alimento se analizaron usando el procedimiento de medidas repetidas con el procedimiento MIXED (SAS, 2000), según lo propuesto por Littell (1998).

El modelo estadístico empleado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \delta_i + d_{ij} + T_k + (\delta T)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = variable de respuesta en el i-ésimo tratamiento, j-ésima repetición

μ = media general

δ_i = efecto del i-ésimo tratamiento

d_{ij} = efecto aleatorio asociado con el j-esimo animal en el i-ésimo tratamiento

T_k = efecto fijo del k-ésimo periodo

$(\delta T)_{ij}$ = efecto fijo de la interacción del i-ésimo tratamiento con el k-ésimo periodo

ε_{ij} = error experimental

ENSAYO METABÓLICO

Localización

El estudio se realizó en la unidad metabólica de la granja experimental del Colegio de Postgraduados, Montecillo, México, en el km 36.5 de la carretera México- Texcoco, en Montecillo, Estado de México, a una altitud de 2240 m. El clima de la región es (Cw0) (w) b (i') (g), que corresponde a un templado con lluvias en verano, época seca en invierno y una temperatura promedio anual de 15.2°C. La precipitación media anual es 636.5 mm.

Animales

Se utilizaron cuatro borregos Criollos (PV 45 ± 5 kg) con cánula ruminal y duodenal, alojados en jaulas metabólicas individuales recibiendo una alimentación *ad libitum* y un periodo con alimentación restringida (90%) para evitar la selectividad.

Variables de respuesta

pH ruminal. Se midió con un potenciómetro portátil marca Orion®, registrándose el pH inmediatamente después de obtener la muestra.

Nitrógeno amoniacal (N-NH₃). Se determinó mediante la técnica propuesta por McCullough (1967) y la absorbancia se midió en un espectrofotómetro de luz ultravioleta (Varian®, modelo CARY 1.E) a 630 nm.

Ácidos grasos volátiles (AGV). La lectura se realizó en un cromatógrafo de gas HP® (6890); las concentraciones se reportaron en mmol L⁻¹ de líquido ruminal (Erwin *et al.*, 1961).

Lactato. La concentración se determinó enzimáticamente con lactato deshidrogenasa, y se midió en un espectrofotómetro de luz ultravioleta (Varian®, modelo CARY 1.E) a 540 nm. (Gutman y Wilhelm, 1974).

Digestibilidad. Se utilizó óxido de cromo como marcador externo para calcular la digestibilidad ruminal y total de los nutrientes utilizando 2 g animal⁻¹, el cual se suministró en dos tomas (Uden *et al.*, 1980).

Diseño experimental

El diseño experimental fue un Cuadro Latino 4x4 y los datos de digestibilidad y lactato se analizaron con el procedimiento GLM (SAS, 2000). Las medias se compararon con la prueba de Tukey (Steel y Torrie, 1986).

El modelo estadístico empleado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + C_j + T_{(k)} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = variable respuesta en hilera i , columna j y tratamiento k

μ = media general

H_i = efecto de la hilera i

C_j = efecto de columna j

T_k = efecto del tratamiento k

ε_{ijk} = error aleatorio

Los datos de pH, N-NH₃ y AGV se analizaron como medidas repetidas utilizando el procedimiento MIXED (SAS, 2000).

El modelo estadístico empleado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \delta_i + P_k + d_{ij} + T_k + (\delta T)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = variable de respuesta en el i -ésimo tratamiento, j -ésima repetición

μ = media general

δ_i = efecto del i -ésimo animal (hilera)

P_k = efecto fijo del k -ésimo periodo (columna)

d_{ij} = efecto aleatorio asociado con el j -ésimo animal en el i -ésimo tratamiento

T_k = efecto fijo del tiempo

$(\delta T)_{ij}$ = efecto fijo de la interacción del i -ésimo tratamiento con el k -ésimo periodo

ε_{ij} = error experimental

Cuadro 1. Ingredientes y composición química de las dietas.

Ingrediente	A	B	C	D
Sorgo (%)	72	72	72	72
Rastrojo (%)	10	10	9.15	9.15
Melaza (%)	9	9	9	9
Soya (%)	7	7	7	7
Urea (%)	1.5	1.5	1.5	1.5
Minerales (%) ¹	1	1	1	1
Acid buf (%) ²	0	0	0.85	0.85
Enzima(g kg ⁻¹ sorgo) ³	0	2.6	0	2.6
Composición química				
MS (%)	89.65	89.65	89.65	89.65
PC (%)	14.86	15.61	14.43	15.97
FDN (%)	20.95	19.9	20.24	19.9
Almidón	49.90	50.59	50.1	50.63

¹ Vitasal Engorda Ovino Plus® cada kg contiene: 27, 3, 0.75, 6.55, 10 y 0.05% de Ca, P, Mg, Na, Cl y K; 42, 2000, 35000, 2000, 978, 3000, 50, 20 y 15 ppm de S, lasolacida, vitamina A, Mn, Fe, Zn, Y, Se y Co; 150000 y 150 UI de vitamina D y vitamina E.

² Acid buf® cada kg contiene: 750, 190, 4.6, 20, y 2 g de CaCO₃, MgCO₃, S, Na y Fe: 125, 39, 37, 6, 12, 160; 1 ppm de Mn, Mb, Zn, Co, Cu, I, y Se.

³ Mezcla enzimática amilolítica: *Aspergillus niger* (1.3 g proteína kg⁻¹ sorgo) y *Bacillus lincheniformis* (1.3 g proteína kg⁻¹ sorgo), cada una dosificadas al 50 % del total.

RESULTADOS

ENSAYO PRODUCTIVO

Consumo de materia seca

El consumo de alimento observado no fue diferente ($p>0.05$) entre tratamientos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Consumo de materia seca (MS) por periodos y promedio de borregos alimentados con una dieta a base de grano de sorgo con una mezcla enzimática amilolítica (Enzima) y un amortiguador.

Periodo	Consumo de MS (g MS d ⁻¹)				
	Testigo	Enzima	Amortiguador	Amortiguador +Enzima	EEM*
1	872.51	903.11	1050.56	1104.51	90.26
2	1191.25	1190.31	1348.87	1180.96	110.32
3	1310.45	1289.18	1200.94	1365.39	114.72
Promedio	1124.74	1127.54	1200.12	1216.95	65.83

*Error estándar de la media.

Cada período: 14 d.

Ganancia de peso

La ganancia de peso por periodos y entre tratamientos no fue diferente ($p>0.05$; Cuadro 3) aunque la ganancia promedio fue numéricamente superior (7%) en los tratamientos con amortiguador.

Cuadro 3. Ganancia de peso por periodos y promedio de borregos alimentados con una dieta a base de grano de sorgo con una mezcla enzimática amilolítica (Enzima) y un amortiguador.

Periodo	GDP de MS (g d ⁻¹)				
	Testigo	Enzima	Amortiguador	Amortiguador +Enzima	EEM*
1	210.06	209.65	239.86	243.91	0.026
2	292.72	274.90	282.69	294.04	0.032
3	291.19	303.52	324.86	315.53	0.032
Promedio	264.74	262.69	282.51	284.53	0.017

*Error estándar de la media
Cada período: 14 d.

Conversión alimenticia

La conversión alimenticia (CA) en cada periodo y total no fue diferente ($p > 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 4).

Cuadro 4. Conversión alimenticia por periodos y promedio de borregos alimentados con una dieta a base de grano de sorgo con una mezcla enzimática amilolítica (Enzima) y un amortiguador.

Periodo	CA de MS				
	Testigo	Enzima	Amortiguador	Amortiguador +Enzima	EEM*
1	4.38	4.62	4.71	4.66	0.57
2	4.39	4.33	5.61	4.83	0.85
3	5.49	4.46	4.99	4.48	0.86
Promedio	4.75	4.39	5.30	4.65	0.47

*Error estándar de la media
Cada período: 14 d.

DISCUSIÓN

Consumo de materia seca

El principal síntoma de la acidosis subaguda es una reducción del consumo de alimento y una disminución de la producción (Garrett *et al.*, 1999), lo cual indicaría que los borregos de los tratamientos sin amortiguador padecían este síndrome. Lo anterior coincide con resultados reportados por Rojo *et al.* (2001), Mora *et al.* (2002) y Lee *et al.* (2006) para experimentos donde usaron enzimas similares. Buendia *et al.* (2001) observaron diferencias en el consumo de alimento con 6 g enzima kg^{-1} sorgo, mientras que Rojo *et al.* (2001), Mora *et al.* (2002) y Lee *et al.* (2006) observaron un menor consumo en dietas altas en grano sin un amortiguador ruminal. Sin embargo, los borregos en los tratamientos con amortiguador presentaron un incremento (7%) no significativo ($p > 0.05$) en el consumo voluntario de alimentos. Adams *et al.* (1981) reportan que el bicarbonato de sodio estimula el consumo de dietas altas en grano para corderos. Al respecto, los carbonatos entran al rumen como parte de la dieta y por medio de las secreciones de saliva durante la rumia (Erdman, 1988), lo cual ayuda prevenir una reducción en el consumo.

Ganancia diaria de peso (GDP)

Un incremento en el consumo de alimento se refleja en una mayor GDP (Cooper *et al.* 1999) y, al respecto, Stock *et al.* (1995) reportan que la variación en el consumo está correlacionada negativamente ($R = -0.28$) con la relación ganancia/consumo. También Steerer *et al.* (1999) identificaron una aparente correlación negativa entre la velocidad de consumo y la ganancia diaria de peso. En contraste, en rumiantes que usan una mayor cantidad de tiempo para consumir el alimento se observa una mayor GDP, mientras que en rumiantes que tienen un más rápido consumo del alimento hay un mayor riesgo de acidosis. Resultados similares a los el presente estudio fueron reportados por Buendia *et al.* (2001), Rojo *et al.*

(2001), Mora *et al.* (2002) y Lee *et al.* (2006), quienes no encontraron diferencias en la GDP en dietas con 50 y 70% de sorgo asperjado con enzimas amilolíticas.

Conversión alimenticia

La conversión alimenticia (CA) en cada periodo y total no tuvo diferencias. Las enzimas incrementan la digestibilidad de la materia seca (Rojo *et al.*, 2001) y aun con la adición de un amortiguador no se afectan los productos de la fermentación ruminal (AGV, NH₃ y lactato), con el riesgo de que los animales caigan en acidosis, ocasionando una variación en el consumo de alimento y así afectando la conversión alimenticia.

RESULTADOS

ENSAYO METABÓLICO

Digestibilidad

Los resultados de la digestibilidad total de la materia seca, del almidón y de la materia orgánica de los borregos alimentados *ad libitum* se presentan en el Cuadro 5. La digestibilidad total de materia seca, de almidón y de materia orgánica no fueron diferentes ($p>0.05$) entre tratamientos. Aunque si se observa un incremento numérico en los tratamientos con enzima y amortiguador con respecto al testigo.

Los valores para la digestibilidad ruminal de la materia seca, del almidón y de la materia orgánica, para borregos con alimentación restringida, se muestran en el Cuadro 6. No se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) entre tratamientos para dichas variables.

Cuadro 5. Digestibilidad total y ruminal de materia seca, de almidón y de materia orgánica en animales alimentados *ad libitum*.

	T	T + E	T + B	B + E	EEM	F
Digestibilidad total de la materia seca (%)	75.33	77.92	79.84	81.80	2.15	0.69
Digestibilidad total del almidón (%)	96.15	96.32	96.80	97.38	0.47	1.34
Digestibilidad total de la materia orgánica (%)	78.96	81.75	82.34	85.23	1.90	1.82
Digestibilidad ruminal de la materia seca (%)	49.92	43.41	45.93	42.99	3.44	0.85
Digestibilidad ruminal del almidón (%)	92.60	92.12	92.45	92.76	0.94	0.08
Digestibilidad ruminal de la materia orgánica (%)	57.54	60.12	59.71	55.18	4.09	0.31
T= testigo; T+E= enzima; T+B= amortiguador; B+E= amortiguador y enzima; EEM= Error estándar de la media; F= Probabilidad de F						

Cuadro 6. Digestibilidad total y ruminal de materia seca, almidón y materia orgánica de animales con alimentación restringida.

	T	T + E	T + B	B + E	EEM	F
Digestibilidad total de materia seca (%)	70.70	75.60	76.20	75.37	2.72	0.86
Digestibilidad total de almidón (%)	94.85	95.35	95.45	95.84	0.89	0.21
Digestibilidad total de materia orgánica (%)	75.94	81.29	78.21	78.74	2.63	0.70
Digestibilidad ruminal (%)	28.44	39.92	40.38	53.29	5.27	3.38
Digestibilidad ruminal de almidón (%)	89.66	92.16	91.86	94.99	1.39	2.46
Digestibilidad ruminal de materia orgánica (%)	43.84	45.73	47.29	61.51	7.37	1.20
T= testigo; T+E= enzima; T+B= amortiguador; B+E= amortiguador y enzima; EEM= Error estándar de la media; F= Probabilidad de F						

Ácidos grasos volátiles (AGV's)

En el Cuadro 7 se reporta la concentración de AGV en el rumen de borregos alimentados *ad libitum*. No hubo diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$), entre tratamientos, para la concentración de ácido acético, de ácido propiónico ni para la relación acético:propiónico. En cambio, la concentración de ácido butírico fue menor ($p \geq 0.05$) en el tratamiento donde se incluyó la mezcla enzimática amilolítica y el amortiguador ($p \geq 0.05$).

La concentración de AGV para borregos con restricciones alimenticias se presenta en el Cuadro 8. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$), entre tratamientos, para la concentración de ácido acético y butírico. Sin embargo, el ácido propiónico y la relación acético:propiónico sí presentaron diferencias ($p \geq 0.05$) entre tratamientos.

Cuadro 7. Medias de mínimos cuadrados en porcentaje molar de ácido acético, propiónico, butírico, relación de ácido acético: propiónico y lactato en rumen de borregos alimentados *ad libitum*.

	Tratamiento				EEM	F
	T	T + E	T + B	B + E		
Acético	44	46,43	43,08	42,72	1,41	1,4
Propiónico	39,11	39,49	40,71	44,8	2,22	1,37
Butírico	16,88	14,06	16,2	12,47	1,64	1,5
Acético:propiónico	1.18	1.26	1.09	0.98	.10	1.28
Lactato mmol L ⁻¹	2.17	2.52	2.94	4.08	0.61	1.85

T= testigo; T+E= enzima; T+B= amortiguador; B+E= amortiguador y enzima. EEM = Error estándar de la media; F= Probabilidad de F

^{a,b,c} hileras con diferentes literales son diferentes estadísticamente ($p \geq 0.05$).

Cuadro 8. Medias de mínimos cuadrados en porcentaje molar de ácido acético, propiónico, butírico, relación de ácido acético: propiónico y lactato en rumen de borregos con alimentación restringida.

	Tratamiento				EEM	F
	T	T + E	T + B	B + E		
Acético	47,04	44,3	47,57	43,18	1,77	1,42
Propiónico	34,71 ^b	40,2 ^a	40,55 ^a	43,67 ^a	1,43	6,79
Butírico	18,24	15,49	11,86	13,13	2,94	0,91
Acético:Propiónico	1.40 ^a	1.13 ^a	1.21 ^b	1.06 ^b	0.06	5.15
Lactato Mmol L ⁻¹	12.68	4.28	2.80	4.13	4.33	1.09

T= testigo; T+E= enzima; T+B= amortiguador; B+E= amortiguador y enzima. EEM = Error estándar de la media; F= Probabilidad de F

^{a,b,c} hileras con diferentes literales son diferentes estadísticamente ($p \geq 0.05$).

Lactato

La concentración de lactato ruminal para borregos con o sin restricción alimenticia no fue diferente entre tratamientos ($p > 0.05$).

pH

Los valores de pH para borregos sin restricciones alimenticias se presentan el Cuadro 9, y se observa que no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos. Sin embargo, en la hora 1 y la 24 se encontraron diferencias ($p \geq 0.05$), las cuales no cambiaron los valores promedio.

En el Cuadro 10 se reportan los valores de pH para borregos con restricciones alimenticias, los cuales no fueron estadísticamente ($p \geq 0.05$) diferentes. Sin embargo, los valores para animales bajo este régimen alimenticio fueron más altos que aquellos alimentados *ad libitum*. Aunque en algunas horas (1, 2, 4 y 24) se puede observar que los valores de pH son diferentes ($p \geq 0.05$) entre tratamientos.

Cuadro 9. Medias de mínimos cuadrados del pH ruminal en borregos alimentados *ad libitum* con dieta a base de grano de sorgo con una mezcla enzimática amilolítica y amortiguador ruminal.

Hora	Tratamiento					
	T	T+E	T+B	B+E	EEM	F
0	5.90	5.89	6.30	6.02	0.39	0.24
1	6.47 ^a	6.03 ^a	6.01 ^a	5.57 ^b	0.22	2.75
2	5.95	5.91	5.45	5.61	0.16	2.08
4	6.15	5.69	5.60	5.90	0.21	1.24
8	5.86	5.53	5.34	5.30	0.20	1.27
12	5.58	5.76	5.77	5.47	0.26	0.29
24	6.26 ^a	5.83 ^b	6.40 ^a	6.10 ^a	0.14	2.64
Promedio	6.02	5.80	5.87	5.71	0.12	1.05

T= testigo; T+E= enzima; T+B= amortiguador; B+E= amortiguador y enzima. EEM= Error estándar de la media; F= Probabilidad de F

^{a,b,c} hileras con diferentes literales son diferentes estadísticamente ($p \geq 0.05$).

Cuadro 10. Medias de mínimos cuadrados del pH ruminal en borregos con alimentación restringida con dieta a base de grano de sorgo con una mezcla enzimática amilolítica y amortiguador ruminal.

Hora	Tratamiento					
	T	T+E	T+B	B+E	EEM	F
0	6.59	6.25	6.62	6.52	0.17	0.88
1	6.70 ^a	6.10 ^a	6.43 ^a	6.05 ^b	0.16	3.27
2	6.14 ^a	5.77 ^a	5.82 ^a	5.52 ^b	0.17	2.16
4	5.25 ^b	5.64 ^a	5.38 ^a	5.67 ^a	0.11	3.07
8	5.73	5.83	5.99	5.55	0.31	0.36
12	5.72	5.60	5.43	5.34	0.15	1.14
24	6.64 ^a	6.84 ^a	6.63 ^a	6.38 ^b	0.07	6.8
Promedio	6.11	6.00	6.04	5.86	0.10	0.93

T= testigo; T+E= enzima; T+B= amortiguador; B+E= amortiguador y enzima; EEM= Error estándar de la media ; F= Probabilidad de F

^{a,b,c} hileras con diferentes literales son diferentes estadísticamente

Nitrógeno amoniacal (N-NH₃)

La concentración de N-NH₃ (Cuadros 11 y 12) no presentó diferencias (p>0.05) entre tratamientos para borregos restringidos y alimentados *ad libitum*.

Cuadro 11. Medias de mínimos cuadrados mg L⁻¹ del NH₃ ruminal en borregos alimentados *ad libitum* con una dieta a base de grano de sorgo con una mezcla enzimática amilolítica y amortiguador ruminal.

Hora	Tratamiento					
	T	T+E	T+B	B+E	EEM	F
0	9.53 ^a	7.27 ^a	3.76 ^b	8.73 ^a	1.55	2.68
1	20.35	10.77	24.31	14.55	8.65	0.68
2	16.94	9.31	13.12	7.09	6.28	0.48
4	11.16	7.09	14.84	11.91	5.00	0.41
8	11.98	6.08	7.82	10.44	4.26	0.38
12	11.26	7.40	8.47	9.96	3.00	0.32
24	8.35	13.56	7.66	9.70	3.40	0.60
Promedio	12.78	8.78	10.56	9.43	2.47	0.41

T= testigo; T+E= enzima; T+B= amortiguador; B+E= amortiguador y enzima; EEM= Error estándar de la media; F= Probabilidad de F
^{a,b,c} hileras con diferentes literales son diferentes estadísticamente

Cuadro 12. Medias de mínimos cuadrados mg L⁻¹ del NH₃ ruminal en borregos alimentados con una dieta restringida a base de grano de sorgo con una mezcla enzimática amilolítica y amortiguador ruminal.

Hora	Tratamiento					
	T	T+E	T+B	B+E	EEM	F
0	18.13	12.89	14.12	18.97	5.13	0.34
1	37.69 ^a	16.45 ^b	29.12 ^a	29.74 ^a	6.22	1.99
2	27.63 ^a	13.65 ^b	20.44 ^a	11.31 ^a	6.93	1.12
4	12.06	6.16	6.20	4.01	3.11	1.23
8	5.93	8.59	7.10	21.00	5.31	1.73
12	20.83 ^a	6.84 ^b	15.89 ^a	22.90 ^a	7.16	0.99
24	9.54 ^a	19.40 ^a	5.15 ^b	8.50 ^a	3.52	3.03
Promedio	18.83	12.01	14.00	16.63	2.81	1.12

T= testigo; T+E= enzima; T+B= amortiguador; B+E= amortiguador y enzima; EEM= Error estándar de la media; F= Probabilidad de F
^{a,b,c} hileras con diferentes literales son diferentes estadísticamente

DISCUSIÓN

Digestibilidad

La falta de respuesta de la mezcla enzimática amilolítica sobre la digestibilidad total y ruminal de almidón podría estar relacionada con el hecho de que las condiciones fisicoquímicas del rumen no son las óptimas para que las enzimas puedan incrementar la digestión del almidón (Solvay enzymes, 1992). El asperjar la enzima al grano facilita la formación del complejo enzima:sustrato, lo cual puede aumentar la resistencia de las enzimas a la proteólisis ruminal (Beauchemin *et al.*, 1999). Esto pudiera explicar el incremento numérico en la digestibilidad de los tratamientos con la mezcla de enzimas amilolíticas. Los resultados del presente estudio coinciden con lo reportado por Lee *et al.* (2006), quienes no encontraron diferencias significativas en la digestibilidad de la materia seca, del almidón y de la materia orgánica al utilizar enzimas amilolíticas en dietas altas en grano. Sin embargo, no hay coincidencia con los resultados observados por Gutiérrez *et al.* (2000) y Meda *et al.* (2000), quienes realizaron pruebas *in vitro*, mientras que Rojo *et al.* (2001) encontraron un incremento en la digestibilidad por efecto de *B. lincheniformis* lo cual, al parecer se debería a que las α -amilasas de *B. lincheniformis* presentan una gran actividad a pH de 4 a 9 (óptimo 7) y temperaturas de 39 a 49°C (Bosse y Das, 1996).

Cooper *et al.* (1998) realizó pruebas de selectividad en dietas para borregos con respecto a la forma física y fuente de carbohidratos, y concluyó que esto puede causar acidosis con o sin un amortiguador. La selectividad de los animales pudiera explicar el por que animales en tratamientos con amortiguador y sin el tuvieron la misma respuesta. Kawas *et al.* (2007) también reportan una mayor digestibilidad de la fibra detergente neutro por efecto de bicarbonato de sodio, donde mencionan que este puede estar dado por un incremento en la tasa de pasaje de las partículas de fibra desde el rumen.

Mertens y Ely (1979) concluyen que los amortiguadores pueden incrementar la digestión de la fibra cuando: 1) carbohidratos solubles están incluidos en la ración; 2) el tamaño de partícula es reducido; 3) la capacidad amortiguadora natural es baja; 4) con alto consumo de alimento; y 5) cuando los patrones de alimentación son irregulares. Sin embargo, el efecto esperado en una dieta alta en grano sería de prevención de acidosis subclínica.

Ácidos grasos volátiles

En el presente estudio no se muestran diferencias entre tratamientos para acético y butírico, pero sí en propiónico y en la relación acético:propiónico, estos resultados son opuestos a lo normalmente observado en la fermentación ruminal. Church (1991) menciona que con cualquier régimen de alimentación los ácidos grasos predominantes son el acetato, propionato y butirato, con una mayor concentración del acetato con respecto al propionato y butirato.

Al respecto, Kawas *et al.* (2007) reportan resultados similares en dietas de finalización con bicarbonato de sodio para borregos, donde disminuyó la proporción de acetato con respecto al propionato (45.5, 52.8, 41.2 y 43.1 para acetato, y 50.8, 45.1, 53.8 y 54.5 de propionato). Harrison *et al.* (1975) encontraron un incremento en la tasa de dilución del fluido ruminal en dietas con bicarbonato de sodio, mientras que Russell (1998) menciona un incremento en propionato y cambios en la concentración de acetato en pruebas *in vitro*.

Las fermentaciones altas en propionato son energéticamente más eficientes que las altas en acetato (Hungate, 1966, citado por Kawas *et al.* 2007). La concentración de ácido propiónico en el rumen puede aumentar en animales desfaunados o con baja concentración de protozoarios (Nagajara *et al.*, 1992). Esto podría explicar el incremento en la concentración de ácido propiónico, la disminución en la relación acético:propiónico y una mejor eficiencia de la fermentación microbiana. Lo anterior coincide con los resultados reportados por Rojo *et al.* (2001),

quienes adicionaron diferentes dosis de α -amilasas y glucoamilasas en dietas altas en grano y reportan una drástica disminución en la concentración de protozoarios en el rumen. No obstante, el incremento de propionato puede ocurrir independientemente de la concentración de protozoarios en el rumen (Jouany, 1998).

Lactato

La concentración de ácido láctico en los tratamientos indica que los borregos se encontraban en una fase de acidosis subaguda de acuerdo con la clasificación de Brown *et al.* (2000), ya que los valores observados en el presente estudio oscilaron entre 2.8 y 12.68 mmol L⁻¹. Estos resultados coinciden con lo reportado por Harmon *et al.* (1985), quienes reportan 2.07 mmol L⁻¹ en novillos alimentados con dietas conteniendo 70% de concentrado.

La acumulación de ácido láctico aumenta drásticamente por un incremento en el número de bacterias ácido-lácticas (*Selenomonas spp*, *Anaerovibrio spp*, *Megasphaera elsdenii* y *Propionobacterium spp*) y disminución de protozoarios (*Entodinium spp*) en el rumen. Hession y Kung (1992) demostraron la importancia de bacterias como *P. shermanii* y *M. elsdenii* en la utilización del lactato al mantener concentraciones bajas en rumen.

pH

Cooper *et al.* (1998) observaron que el pH ruminal fue más bajo en animales con restricciones que en aquellos que no las tenían. Fanning *et al.* (1999) reportan que animales en un protocolo de restricción alimenticia exhiben un pH más bajo y variable que aquellos que tienen libre acceso. Esto debido a que los animales consumen el alimento de una manera más rápida, por lo cual el pH disminuye drásticamente. Schwarzkopf-Geneswein *et al.* (2003) sugieren que la variación en el consumo de alimento no impacta en el pH ruminal, como sí lo hace la velocidad con la que es consumido.

El amortiguador no tuvo efecto en la regulación del pH, esto pudo estar dado por la concentraciones de ácido láctico que tiene un pKa más bajo que los AGV's producidos en el rumen.

Nitrógeno amoniacal (N-NH₃)

La concentración de N-NH₃ fue menor en los borregos alimentados ad libitum esto puede estar relacionado a tres causas: 1) elevada utilización de N-NH₃ como resultado de una alta disponibilidad de carbohidratos solubles; 2) disminución en el reciclaje de nitrógeno bacteriano por los protozoarios; y 3) un incremento en la asimilación del amoníaco por parte de una alta población de bacterias. Generalmente, la concentración de proteína soluble en rumen es más alta cuando los animales se alimentan con dietas altas en grano (Hristov *et al.*, 2001).

CONCLUSIONES

El consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia para los borregos alimentados con una dieta alta en grano de sorgo tratado con una mezcla enzimática amilolítica mas un amortiguador no cambiaron. Además, la mezcla enzimática amilolítica y el amortiguador no tuvieron efecto sobre las variables de fermentación ruminal (digestibilidad, AGV, N-NH₃, lactato y pH), no mostrando un efecto positivo en el metabolismo de nutrientes .

LITERATURA CITADA

- Adams, D.C., Gaylean, M.L., Kiesling, H.E., Wallace, J.D., Finnker, M.D. 1981. Influence of variable yeast culture, sodium bicarbonate and monensin on liquid dilution rate, rumen fermentation and feedlot performance on growing steers and digestibility in lambs. *J. Anim. Sci.* 53:780-789.
- Aguilar, G., Trejo, B.A., Garcia J. y Huitron. C. 1991. Influence of pH on endo- and exo-pectinase production by *Aspergillus sp.* CH-Y-1043. *Can. J. Microbiol.* 37, 912-917.
- Allison, M. J., I. M. Robinson, R. W. Dougherty, y J. A. Buklin. 1975. Grain overload in cattle and sheep: changes in microbial population in the cecum and rumen. *Am. J. Vet. Res.* 36:181-185.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis (15th Ed.), Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC. 1298p.
- Beauchemin, K. A., W. Z. Yang y L. M. Rode. 2001. Effects of barley grain processing on the site and extent of digestión in beef. *J. Anim. Sci.* 79:1925-1936.
- Beauchemin, K. A., W. Z. Yang, y L. M. Rode. 1999. Effects of grain source and enzyme additive on site and extent of nutrient digestion in dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 82: 378-390.
- Bosse, K. y D. Das. 1996. Thermostable alpha-amylase production using *Bacillus licheniformis* NRRL B14368. *Indian J. Expl Biol.*, 34: 1279-1282.
- Britton, R. A. y R. A. Stock. 1986. Acidosis, rate of starch digestión and intake. *In: Agricultural Experiment Station Oklahoma State University (ed.). Symposium Proceedings: Feed Intake by Beef Cattle.* pp: 125-136.
- Brown, M. S., Krehebiel, C. R., Galyean, M. L., Remmenga, M. D., Peters, J. P., Hibbard, B., Robinson. J. y Moseley, W. M. 2000. Evaluations of models of acute and subacute acidosis on dry matter intake, ruminal fermentation, blood chemistry and endocrine profiles of beef steers. *J. Anim. Sci.* 78:3155-3168.
- Buendía R.G., Mendoza, M.G.D., Bárcena, G.R., Ortega, M.E., Solis H.J. y Lara, B.A. 2003. Effects of glucoamylase from *Aspergillus niger* on in vitro

digestibility of maize and sorghum and on lamb performance. *Agrociencia*, 37:317-322.

<http://comunidad.uach.mx/fsalvado/ALIMENTOS%20BALANCEADOS-2004-CANACINTRA.ppt>

- Candanosa, A. E., G. Mendoza, E. R. Salcedo y A. D. Castillo. 2001. Efecto de algunos modificadores de la fermentación ruminal en la evaluación de equilibrio ácido-base y electrolítico en borregos con acidosis ruminal subclínica. *In: Memorias del XXV Congreso Nacional de Buiatria*. Veracruz, Mexico. En CD.
- Castro, G. R., M. A., Ferrero, B. S. Mendez y F. Sineriz. 1993. Screening and selection of bacteria with high amylolytic activity. *Acta Biotech.* 13:197-201.
- Cheng, K. J., C. W. Forsberg, H. Minato y J. W. Coterston. 1991. Microbial ecology and physiology of feed degradation within the rumen. *In: Tsuda T, Y. Sasaki and E. Kawashima (eds.). Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. Academic Press, Toronto, Ont. Pp: 595-624.
- Church, D. C. 1991. *Livestock feeds and feeding*, third ed. Prentice-Hall Inc., USA, 349pp.
- Cooper, R. T., Klopfenstein, R. Stock y C. Parrot. 1998. Observations on acidosis through conual feed intake and ruminal pH monitoring. *Nebraska Beef Cattle Rep.* MP 69A:75-78.
- Cooper, R. T., Klopfestein, R., R. A. Stock, C. T. Milton, D.W. Herold, y J. C. Parrot. 1999. effects of imposed feed intake variations on acidosis and performance of finishing steers. *J. Anim. Sci.* 77:1093-1099.
- Cotta, M. R. 1988. Amilolytic activity of selected ruminal bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 54:772-776.
- Cuellar, O. J. A. 2003. Perspectivas de la ovinocultura en México. *In: Memorias del segundo seminario sobre producción intensiva de ovinos*. Villahermosa, Tabasco. 7-11 p.
- Declerk, N., Machius, R. Chambert, G. Wiegand, R. Huber y C. Gallardin. 1997. Hyperthermostable mutants of *Bacillus licheniformis* alpha-amilase: Thermodynamic studies and structural interpretation. *Prot. Engin.* 10: 541-549

- Donovan, J. 1997. La acidosis subaguda nos esta costando millones. *IN: Hoard's Dairyman en español*. Noviembre. Pp: 660-663.
- Duran, A. J. 1998. Utilización de la glucoamilasa de *Aspergillus niger* para evaluar la digestión in vitro del almidón de sorgo. Tesis de Maestría. Especialidad de Ganadería. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 51p.
- Erdman, R. A. R. W. Hemken y L. S. Bull. 1982. Dietary sodium bicarbonate and magnesium oxide for early postpartum lactating dairy cows: effects on production, acid-base metabolism and digestion. *J. Dairy. Sci.* 65: 712-731.
- Erdman, R.A. 1988. Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow: A review. *J. Dairy. Sci.* 71: 3246-3266.
- Erwin, E. S., G. J. Marco y E. Emery. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44: 1768-1776.
- Fanning, K., T. Milton, T. Klopfestein, D. J. Jordon, R. Cooper y C. Parrot. 1999. Effects of rumensin level and bunk management strategy on finishing steers. *Nebraska Beef Rep. MP.* 71A:41-44.
- Garrison, D. G., Beever, D. E., Thomson, D. J. and Osbourn, D. F. 1975. Manipulation on rumen fermentation in sheep by increasing the rate of flow of water from the rumen. *J. Agri. Sci.* 85: 93-101.
- Garrett, F. E., Pereira, N. M., Nordlund, V. K., Armentano, E. L., Goodger, J. W. y G. R. Oetzel. 1999. Diagnostic methods for the detection of subcute ruminal acidosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 1170-1178.
- Ghorbani, G. R., K. A. Beauchemin, y P. D. Morgavi. 2001. Subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle fed and barley-based diet. *J. Anim Sci.* 79(Suppl):357
- Giesecke, D., y M. Stangassinger. 1980. Lactic acid metabolism. Page 523 *in Physiology and Metabolism in Ruminants*. AVI Publ. Co., Inc., Westport, CT.
- Gutiérrez, C. L. C., G. D. Mendoza M., Crosby, G. M. M. y M. Cobos. 2000. Estabilidad de enzimas amilolíticas termoestables y digestibilidad in situ del sorgo. *In: XXXVI Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*. Sonor, México. P. 243.
- Heitschmidt R K, Short R E and Grings E E 1996 Ecosystems, sustainability and agriculture. *Journal of Animal Science* 74:1395-1405.

- Herrera, S. R. E., J. T. Huber y M. H. Poore. 1990. Dry matter, crude protein and degradability of five cereal grains. *J. Dairy Sci.* 73: 2386-2393.
- Hession, A. O. y L. Kung. 1992. Altering ruminal fermentation by microbial inoculation with lactate utilizing microorganism. *J. Anim. Sci.* 70(Suppl. 1):311. (Abstr.).
- Hristov, A. N., M. Ivan, L. M. Rode y T. A. McAllister. 2001. Fermentation characteristics and ruminal ciliate protozoal populations in cattle feed medium or high concentrate barley based diets. *J. Anim. Sci.* 79:515-524.
- Huber, T. L. 1071. Effect of acute indigestion of compartmental water volumen ond osmolarity in sheep. *Am. J. Vet. Res.* 32:887.
- Hungate, R. E. 1966. *The rumen and its microbes.* Academic Press. New York.
- Huntington, B. G. 1997. Starch Utilization by Ruminants: From Basics to the Bunk. *J. Anim. Sci.* 75:852-867.
- Jouany, J. P., B. Michalet-Doreau y M. Doreau. 1998. Manipulation of the rumen ecosystem to support high-performance beef cattle. *In: a J. K. y K. K. Paik (eds.) Symposium series 2. Proc. 8th World conf. on Anim. Prod.* Shinkwang Publishing and printing Co., Seoul, Korea. Pp. 109-130.
- Kawas, J. R., Garcia-Castilo, R., Fimbres-Durazo, H., Garza-Cazares, F., Hernandez-Vidal, J. F. G., Olvares-Saenz, E. y Lu, C. D. 2007. Effects of sodium bicarbonate and yeast on nutrient intake, digestibility, and ruminal fermentation of Light-weiht lambs fed finishing diets. *Small ruminant research.*67:149-156.
- Klieve, A. V., D. Hennessey, D. Ouwerkerk, R. J. Forsster, R. I. Makcie y G. T. Attwood. 2002. Establishment of population of *Megasphaera elsdenii* YE 34 and *Butyrivibrio fibrisolvens* YE 44 when inoculated into the rumen of cattle. *J. Appl. Micro.*
- Kreikemeier, K. K., D. L. Harmond, R. T. Brandt, T. B. Avery y D. E. Jonson. 1991. Small intestinal starch digestion in steers: Effect of various levels of abomasal glucose, corn starch and corn dextrin on small intestinal disappearance and net glucose absorption. *J Anim. Sci.* 69: 328-338.
- Le Ruyet, P. y W. B. Tucker. 1992. Ruminal buffers: Temporal effects on buffering capacity and pH of ruminal fluid from cows fed a high concentrate diet. *J. Dairy Sci.* 75: 1069-1077.

- Lee-Rangel, H. A., Mendoza, G. D., Pinos-Rodriguez, J. M., Barcena, R. Plata y F. Ricalde, R. 2006. Effect of an exogenous glucoamilase during different periods of time of performance of lambs fed sorghum based diets. *J. Appl. Anim. Res.* 29: 141-144
- Leson, S., Summers, J. D., 2001. Nutrition of the chicken (4th Ed). University Books. Ontario, Canada. 591p.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL y Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Mackie, R. I., y F. M. C. Gilchrist. 1978. Microbiological and chemical changes in the rumen during the steepwise adaptation of sheep to high concentrate diets. *J. Agric. Sci. (Camb)* 90:241-254
- McAllister, T. A., H. D. Bae., G. A. Jones, y K. J. Cheng. 1994. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *J. Anim. Sci.* 82: 3004-3018.
- McCullough, H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by direct colorimetric method. *Clin. Chem. Acta* 17:297-304.
- McGinty, D. D. y J. K. Riggs. 1968. Variation in digestibility of sorghum grain varieties. *J. Anim. Sci.* 27: 1170-1182.
- Meda, G. F. C., R. Barcena G., G. Mendoza M., y O. G. Aguilar. Evaluación de una alpha amilasa de *Bacillus lincheniformis* en la digestibilidad de materia seca en diferentes variedades de sorgo. *In: XXXVI Reunión Nacional de Investigación Pecuaria.* Sonora, México. Pp. 220.
- Mendoza M.G.D., Britton R.A., Stock R.A. 1995 Effect of protozoa and urea level on *in vitro* starch disappearance and amyolytic activity of ruminal microorganism. *Anim. Feed Sci. Technol.* 54:315-325.
- Mendoza, M. G. D., 1992. Digestión ruminal del almidon en rumiantes alimentados con dieta altas en grano. *In: Topics Avanzados en Nutricion de Rumiantes.* Benemérita Universidad Autonoma de Puebla. Puebla, Pue. pp102-114.
- Mendoza, M. G. D., Plata, P. F. X., Ramirez, M. M., Mejia, D. M., Lee, R. H. y Barcena, R. 2007. Evaluacion de alimentos integrales para el engorde intensivo de ovinos. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XVII,*

- Mendoza, M. G. D., y Ricalde V. 1993. Alimentación de Ganado Bovino con Dietas Altas en Grano. Primera Edición. Libro de Texto. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. 97 p.
- Mendoza, M. G., R. A. Britton, y R.A. Stock. 1998. Ruminant fermentation and in situ starch digestion with high moisture corn, dry rolled grain sorghum or a mixture of these grains. *Anim. Feed Sci. Technol.* 74: 329-335.
- Mertens, D. R y Ely, L. O. 1979. A dynamic model of fiber digestion and passage in the ruminant for evaluating forage quality. *J. Anim. Sci.* 49:1085-1095.
- Miller, C.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Analytic Chemistry* 31:426-428.
- Miller, F. R., R. S. Loerey, W. G. Monson, G. W. Burton y H. J. Cruzado. 1972. Estimates of dry matter digestibility differences in grain of some *Sorghum bicolor* (L.) Moench varieties. *Crop Sci.* 12:563-569.
- Montañez, V. O. D. 2004. Uso de amortiguadores ruminales y un complejo enzimático fibrolítico exógeno en dietas para novillos holstein. Tesis de doctorado en ciencias. Programa de Ganadería. Colegio de Postgraduados Montecillo, Texcoco, Edo. De México. México. 141 pp.
- Mora, J.G., Bárcena G.R., Mendoza M.G.D., González, M.S.S. y Herrera H.J. 2002. Productive performance and ruminal fermentation in lambs fed with sorghum grain treated with amylase. *Agrociencia*, 36:31-39.
- Moran, E.T. 1982 Starch digestion in fowl. *Poul. Sci.* 61: 1257-1267.
- Nagajara, T. G., G. Towne y A. A. Beharka. 1992. Moderation of ruminal fermentation by ciliate protozoa in cattle feed a high-grain diet. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:2410-2414.
- Nagel, S. y G. A. Broderick. 1992. Effect of formic acid or formaldehyde treatment of alfalfa silage on nutrient utilization by dairy science cows. *J. Dairy Sci.* 75:140.
- Nahas, E., Terenzi, H. F. y Rossi A. 1982. Effect of carbon source and pH on production and secretion of acid phosphatase (E.C. 3.1.3.2) and alkaline phosphatase (EC. 3.13.1) in *Neurospora crassa*.
- Nigam, P. y Singh, D. 1994. Enzyme and microbial systems involved in starch processing. *Enzyme and Microbial Technology.* 17: 770-778.

- Nocek, J. E., C. W. Helad y C. E. Polan. 1984. Influence of ration of physical form and nitrogen availability on ruminal morphology of growing bull calves. *J. Dairy Sci.* 67:334.
- Noziere, P. y Doreau, M. B. 1996. Effects of amount and availability of Starch on amylolytic activity of ruminal solid – associated microorganisms. *J. Sci. Food Agric.*
- Nuncio, O.G., Nahed, J., Oiaz, B., Escobedo, F., Salvatierra, B. Caracterización de los sistemas de producción ovina en el estado de Tabasco. *Agrociencia* 35: 469-477. 2001.
- Offner, A., Bach, A., Sauvant, D., 2003. Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 106, 81–93.
- Orskov, E. R. 1986. Starch digestion and utilization in ruminants. *J. Anim. Sci.* 63:1624-1633.
- Owens, F. N., D. S. Secrist, W. J. Hill y D. R. Gill. 1997. The effect of grain source and grain processing on performance of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 75: 868-879.
- Owens, F. N., D. S. Secrist, W. J. Hill y D. R. Gill. 1998. Acidosis in cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 76: 275-286.
- Owens, F. N., R. A. Zinn and Y. K. Kim. 1986. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *J. Anim. Sci.* 63: 1634-1648.
- Philepeau, C., J. Landry, y B. Michalet-Doreau. 2000. Influence of the protein distribution of maize endosperm on ruminal starch degradability. *J. Sci. Food Agric.* 80:404-408.
- Rebolledo, G. M. 2003. Análisis de la producción y la rentabilidad del cultivo de sorgo forrajero y de grano en el DDR 01 de Atoyac de Álvarez Gro. Tesis de Licenciatura. Departamento de Zootecnia. UACH. Chapingo. Mexico. 62 p.
- Rojo, R., Mendoza, M.G.D., González, M.S., Bárcena, G.R., Crosby, G.M. y Landois, P.L.. 2001. Use of exogenous amylases from *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus niger* in high grain diets. *J. Anim. Sci.*, 79: 280 (Abstr).

- Romero, B. M. A., D. J. M. López, y A. R. A. Gómez. 1992. Digestibilidad de dietas de engorda tratadas con enzimas para grano de sorgo. Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Chihuahua, Chih. 181 p.
- Rusell, J. B. y T. Hino. 1985. Regulation of lactate production in *Streptococcus Bovis*: a spiraling effect that contribuyes to rumen acidosis. J. Dairy Sci. 68:1712-1721.
- Russell, J. B. 1998. The importance of the pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ration and methane production in vitro. J. Dairy Sci. 81: 3222-3230.
- SAGARPA. 2003. Situación Actual y Perspectiva de la Producción de Sorgo en México 1990- 2004. 93 pp.
- Sánchez, C. 2001. Estrategias para la engorda de corderos en corrales. La Revista del Borrego. 2(9):10-11.
- Schwartzkopf-Genswein, K. S., Beauchemin, K. A., Gibb, D. J. Crews, Jr. D. J., Hickman, D. D., Streeter, M. y McAllister, T. A. 2003. Effect of bunk management on feeding behaviour, ruminal acidosis and performance of feedlot cattle: A review. J. Anim. Sci. 81(E. Suppl. 2):E149-E158.
- Schwartzkopf-Genswein, K. S., K. A. Beauchemin., D. J. Giba., D. H. Crews., D. D. Hickman., M. Streeter. y T. A. McAllister. 2003. Effect of punk managment on feeding behavior, ruminal acidosis and performance of feedlot cattle: A review. J. Anim. Sci.(E. Suppl. 2):E149-E158.
- Shariati, P., W. Mitchel, A. Boyd y F. G. Priest. 1995. Anaerobic metabolism in *Bacillus licheniformis* . Microbiol. 141: 1117-1124.
- Solvay enzymes. 1992a. Taka-therm®. Termal stable bacterial alpha-amylases for starch liquefaction (L-340). 5p.
- Solvay enzymes. 1992b. Diazyme®. Fungal glucoamylase for starch hydrolysis (L-200). 5p.
- Sosa, M.E. 1984. Algunas consideraciones nutricionales y quimicas de sorgo con diferente contenido de taninos. Tesis de Maestria. Especialidad de Ganaderia. Colegio de Postgraduados. 104 p.

- Statistical Analysis System, 2000. SAS User's Guide: Statistics, version 8.1. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- Steel, R. G. y J. H. Torrie. 1986. Bioestadística. Principios y procedimientos. Segunda Ed. Edit. McGraw Hill. México.
- Stock, R., T. Klopffstein y D. Shain. 1995. feed intake variation. Proc. Symp: Feed intake by feedlot cattle. Okla. State Univ., Stillwater. P-942:56-59.
- Svihus, B., Kløvstad, K.H., Perez, V., Zimonja, O., Sahlström, S., Schüller, R.B., Jeksrud, W.K., Prestløkken, E., 2004. Nutritional effects of pelleting of broiler chicken diets made from wheat ground to different coarsenesses by the use of roller mill and hammer mill. Anim. Feed Sci. Technol. 117, 281–293.
- Tajima, K., R. I. Aminov, T. Nagemine, H. Matsui, M. Nakamura y Y. Benno. 2001. Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with real-time PCR. Appl. Environmental microbiology. 67:2766-2774
- Theurer, B.C. 1986. Grain processing and starch utilization. Grain processing effects on starch utilization by ruminant. J. Animal Sci. 63:1649-1662.
- Tilley, J.M. y R. A. Terry. 1963. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. J. Br. Grassid. Soc. 18:104-109.
- Uden, P., P. E. Colicci y P.J Van Soest. 1980. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. J. Agric. Sci. Food Agric. 31:625-629.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson y B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74: 3583- 3597.
- Wallace, R. J. 1993. Microbiología del rumen. *In*: Memorias del Curso Internacional Avanzado de Rumiantes. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. pp: 62-67
- Williams, A. G. y G. S. Coleman. 1992. The rumen protozoo. Springer-Verlag, Inc., New York.

Zinn, R. A., A. Barreras, L. Corona, F. N. Owens, y R. A. Ware. 2007. Starch digestión by feedlot cattle: Predictions from análisis of feed and fecal starch and nitrogen. *J. Anim. Sci.* 85: 1727-1730.