



COLEGIO DE
POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

PROGRAMA EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA

EN EL TRÓPICO

EFFECTOS DE LOS NIVELES DE UREA EN EL SACCHAPULIDO

SOBRE LOS PATRONES DE FERMENTACIÓN RUMINAL

CARLOS RUBÉN FERNÁNDEZ CABRERA

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS

H. CÁRDENAS, TABASCO.

JULIO DEL 2009.

La presente tesis, titulada: **Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre los patrones de fermentación ruminal**, realizada por el alumno: **Carlos Rubén Fernández Cabrera**, 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

EN PRODUCCION AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



DR. JESÚS ALBERTO RAMOS JUÁREZ

ASESOR:



DR. ARABEL ELÍAS IGLESIAS

ASESOR:



DR. EMILIO MANUEL ARANDA IBÁÑEZ

ASESOR:



DR. GERMÁN DAVID MENDOZA MARTÍNEZ

ASESOR:



DR. DAVID HERNÁNDEZ SÁNCHEZ

H. Cárdenas, Tabasco, Julio del 2009.

EFFECTOS DE LOS NIVELES DE UREA EN EL SACCHAPULIDO SOBRE LOS PATRONES DE FERMENTACIÓN RUMINAL

Carlos Rubén Fernández Cabrera, MC.
Colegio de Postgraduados

Con el objetivo de determinar el efecto de alimentos fermentados a base de caña de azúcar con pulidora de arroz, *Sacchapulido* (SP), y niveles de urea (U) en los patrones de fermentación ruminal, digestibilidad *in situ* de la materia seca (DIMS), digestibilidad *in situ* de la fibra detergente neutro (DIFDN) y ácido (DIFDA) del forraje Elefante (*Penisetum purpureum* Schumacher), se utilizaron cinco bovinos fistulados en rumen en un diseño Cuadrado Latino 5 x 5. Los tratamientos evaluados fueron: Solo forraje (T1), T1 + SP con 0.5 % de U (T2), T1 + SP con 1.0 % U (T3), T1 + SP con 1.5 % U (T4) y T1 + SP con 2.0 % de U (T5). La concentración del N-NH₃ en los animales suplementados fue mayor con relación a los animales sin suplemento, el SP con 1.5 y 2 % de U tuvieron las concentraciones mayores (P<0.001). El pH ruminal no fue afectado por el SP con los diferentes niveles de U, el pH fue mayor de 6.2. La DIMS fue mayor (P<0.001) en los animales suplementados con SP, independientemente del nivel de U, con respecto al solo forraje; los mayores efectos (P<0.001) en la DIMS del forraje, se obtuvieron con SP al 1.5 % de U. Así mismo, la DIFDN y DIFDA del forraje fue incrementada cuando se suplementó SP con respecto al solo forraje. Por otra parte, la degradación efectiva ruminal de la fibra detergente neutro (DERFDN) y ácido (DERFDA) del forraje se incrementó (P<0.001) cuando se suplementó con SP, los mayores incrementos (P<0.001) en la DERFDN se obtuvieron cuando se suplementó con SP al 2 % de U, mientras que los mayores incrementos (P<0.001) en la DERFDA se obtuvieron con SP al 1.5 % de U. El SP con los niveles de U utilizados mantienen el pH en rangos óptimos para no afectar la celulólisis ruminal e incrementan la digestibilidad efectiva ruminal de la materia seca y fracciones de fibra del forraje, los mayores incrementos en el forraje se obtienen cuando se usa el 1.5 y 2 % de U en el SP.

Palabras clave: Fermentación ruminal, fracción de fibra, caña de azúcar, fermentación en estado sólido.

EFFECTS OF UREA LEVELS IN THE SACCHA-POLISHING ON THE PARAMETERS OF RUMINAL FERMENTATION

Carlos Rubén Fernández Cabrera, MC.
Colegio de Postgraduados

To determine the effect of fermented food in solid state as the basic ingredients sugar cane with polished rice, *Saccha-polishing* (SP), and urea levels (*u*) on the ruminal fermentation, *in situ* disappearance dry matter (DIMS), *in situ* disappearance of detergent neuter fiber (DIFDN) and acid (DIFDA) of forage Elephant (*Penisetum purpureum* Schumacher), five ruminally cannulated beef steers were used in 5x5 Latin square design. The evaluated treatments (T) were: Only forage (T1), T1 + SP with 0.5 % of *u* (T2), T1 + SP with 1.0 % of *u* (T3), T1 + SP with 1.5 % of *u* (T4) and T1 + SP with 2.0 % of *u* (T5). The N-NH₃ concentration in the animal supplemented was major than the reported in the animals without supplement; the SP with 1.5 and 2 % of *u* had high concentrations (P<0.001). The ruminal pH was not affected by the SP with the different urea levels; the ruminal pH was major to 6.2. The DIMS was major (P<0.001) in the animal supplemented with SP, independently of *u* level, regarding to the one used in only forage; the biggest effects (P<0.001) in DIMS of the forage, were found SP with 1.5 % of *u*. Likewise, the DIFDN and DIFDA of the forage was increased when the SP was supplemented regarding the to only forage. On the other hand, the ruminal effective degradation of the detergent neuter fiber (DERFDN) and acid (DERFDA) of the forage was increased (P<0.001) when the SP was supplemented, the biggest increases (P<0.001) in DERFDN were found when it was supplemented with SP to 2 % of *u*, since the biggest increases (P<0.001) in the DERFDA were found with SP at 1.5 % of *u*. The SP used with urea levels keeps the pH in the best ranks do not affect the ruminal cellulolitic and increases the ruminal keeps effective degradation of dry matter and fraction fiber of forage, the biggest effect in the forage are obtained when it is used 1.5 and 2 % of *u* in SP.

Key words: Ruminal fermentation, fraction fiber, sugar cane, fermentation in solid state.

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mi estimada madre, Bernarda Cabrera Raymundo, por todo su ánimo, fortaleza y amor incondicional hacia mí, desde que nací, TE AMO MAMÁ.

A mi estimado padre, Rubén Fernández Vázquez †, que supo transmitirme toda la fortaleza, y tenacidad para la superación en mi vida, GRACIAS PAPÁ.

A mis queridísimas hermanas, Bedy Elisabet y Nancy, por todo el ánimo y apoyo oportuno en los momentos difíciles, DE VERDAD GRACIAS NANCY & BEDY.

A mis sobrinita(o), Julieta y Abdiel Israel, que espero serles un ejemplo de perseverancia y superación, LOS QUIERO.

A mi cuñado Israel, por todo su apoyo y ánimos sinceros, GRACIAS ISRAEL.

A mi cuñado Jorge, por su gran apoyo y comentarios valiosos, GRACIAS JORGE.

A mis compañeras(os), sin embargo amigas(os), porque somos los futuros investigadores del agro mexicano.

Agradecimientos

A nuestro DIOS, que sentado desde su trono me dio vida, salud e inteligencia para estudiar una pequeña porción de su gran creación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca otorgada para mi formación académica.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco, por haberme dado la oportunidad de haber hecho uso de sus instalaciones.

Al Fondo Mixto de Fomento a la Investigación Científica y Tecnológica CONACyT–Gobierno del Estado de Tabasco, por el apoyo al proyecto “Intensificación en la producción de alimentos para animales a través de procesos biotecnológicos que protejan al medio ambiente”, Clave **TAB–2007–C09–74746**, del cual forma parte esta investigación.

Muy especial, al Dr. Jesús Alberto Ramos J., por su precisión en la dirección, apoyo y enorme paciencia en mi investigación, es un honor ser su segundo alumno en graduar.

Al Dr. Arabel Elías I., por transmitirme su filosofía, conocimientos, y por aceptar ser parte de mi consejo.

Al Dr. Germán D. Mendoza M., por sus valiosos comentarios y observaciones a la presente tesis, fue un honor tenerlo en mi consejo particular.

Al Dr. Emilio M. Aranda I., por su gran apoyo y contribuciones al presente trabajo, así como por su optimismo y enorme paciencia, de verdad, gracias Dr.

Al Dr. David Hernández S., por su optimismo y entrañable amistad, además por su entusiasmo en la formación académica de sus alumnos, fue un honor conocerlo Dr.

Al Dr. Luis V. Villamil, por su apoyo técnico y **también a todos los demás profesores** que intervinieron en mi formación académica, de verdad **Gracias a TODOS. . .**

INDICE GENERAL

| | Página | |
|------------|--|----|
| I | INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| II | OBJETIVOS..... | 3 |
| III | HIPOTESIS..... | 3 |
| IV | REVISIÓN DE LITERATURA | |
| 4.1. | Situación de la ganadería tropical..... | 4 |
| 4.2. | Características de los pastos tropicales..... | 5 |
| 4.3. | Características y degradación de la fracción fibrosa de los forrajes tropicales..... | 6 |
| 4.4. | Características del forraje <i>Penisetum purpureum</i> (Elefante)..... | 9 |
| 4.5. | Generalidades de la nutrición en rumiantes..... | 9 |
| 4.5.1. | Fermentación ruminal..... | 12 |
| 4.5.1.1. | pH ruminal..... | 12 |
| 4.5.1.2. | Nitrógeno amoniacal (N-NH ₃) en rumen..... | 13 |
| 4.5.1.3. | Ácidos Grasos Volátiles (AGV) en rumen..... | 15 |
| 4.5.2. | Degradación de los carbohidratos en rumen..... | 15 |
| 4.5.3. | Degradación de las proteínas en rumen..... | 17 |
| 4.6 | Cinética de degradación ruminal..... | 21 |
| 4.7. | Concepto de fermentación..... | 22 |
| 4.8. | Fermentación en estado sólido de la caña de azúcar..... | 22 |
| V | MATERIALES Y MÉTODOS | |
| 5.1. | Localización geográfica del área de estudio..... | 25 |
| 5.2. | Manejo de los animales | 25 |
| 5.3. | Elaboración de los alimentos (<i>Sacchapulido</i>)..... | 26 |
| 5.4. | Tratamientos (T) evaluados..... | 26 |
| 5.5. | Determinación del consumo de MS del forraje Elefante, del suplemento y total..... | 26 |
| 5.6. | Indicadores bromatológicos del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea..... | 27 |
| 5.7. | Indicadores fermentativos del líquido ruminal..... | 27 |

| | | |
|-------------|---|----|
| 5.8. | Determinación de la digestibilidad <i>in situ</i> del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea..... | 28 |
| 5.9. | Determinación de los efectos del Sacchapulido con diferentes niveles de urea sobre la digestibilidad <i>in situ</i> del forraje Elefante..... | 28 |
| 5.10. | Diseño experimental y análisis estadísticos..... | 29 |
| 5.11 | Obtención de los ajuste de los parámetros utilizados para la evaluación de los tratamientos..... | 30 |
| 5.12. | Determinación de la degradación efectiva ruminal del forraje Elefante y los suplementos..... | 31 |
| 5.13. | Determinación de los efectos de los suplementos sobre la degradación efectiva ruminal del forraje Elefante..... | 31 |
| VI | RESULTADOS | |
| 6.1. | Composición bromatológica del forraje Elefante y del Sacchapulido (SP) con diferentes niveles de urea (U)..... | 32 |
| 6.2 | Índice de consumo del forraje Elefante, del suplemento y total..... | 32 |
| 6.3. | Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre los patrones de fermentación ruminal..... | 33 |
| 6.4. | Digestibilidad <i>in situ</i> del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea..... | 37 |
| 6.4.1. | Efectos de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la digestibilidad <i>in situ</i> del forraje Elefante..... | 40 |
| 6.5. | Ajuste de los parámetros utilizados para la evaluación del forraje Elefante y los Suplementos..... | 43 |
| 6.5.1. | Ajuste de los parámetros utilizados para la evaluación de los efectos del Sacchapulido sobre el forraje Elefante..... | 46 |
| 6.6. | Degradación efectiva ruminal del forraje Elefante y los suplementos..... | 49 |
| 6.6.1. | Efectos de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la degradación efectiva ruminal del forraje Elefante..... | 52 |
| VII | DISCUSIÓN | 55 |
| VIII | CONCLUSIONES | 62 |
| IX | LITERATURA CITADA | 63 |
| X | ANEXOS | 75 |

INDICE DE CUADROS

| | | Página |
|-------------------|--|--------|
| Cuadro 1. | Ingredientes (base fresca) usados para elaborar el Sacchapulido con los diferentes niveles de urea..... | 26 |
| Cuadro 2. | Composición bromatológica del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea..... | 32 |
| Cuadro 3. | Índices de consumo (% del peso vivo en base seca) del forraje, suplemento y total en animales fistulados en rumen suplementados con Sacchapulido con diferentes niveles de urea..... | 33 |
| Cuadro 4. | Efecto de niveles de urea en el Sacchapulido en el porcentaje de ácidos grasos volátiles en el rumen..... | 36 |
| Cuadro 5. | Digestibilidad <i>in situ</i> de la proteína bruta del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea..... | 40 |
| Cuadro 6. | Parámetros obtenidos con el ajuste para la materia seca del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea..... | 44 |
| Cuadro 7. | Parámetros obtenidos con el ajuste para la fibra detergente neutro del forraje Elefante y del Sacchapulido con niveles de urea..... | 44 |
| Cuadro 8. | Parámetros obtenidos con el ajuste para la fibra detergente ácido del forraje Elefante y del Sacchapulido con niveles de urea..... | 44 |
| Cuadro 9. | Parámetros obtenidos con el ajuste para los efectos del Sacchapulido sobre la materia seca del forraje Elefante..... | 47 |
| Cuadro 10. | Parámetros obtenidos con el ajuste para los efectos del Sacchapulido sobre la fibra detergente neutro del forraje Elefante..... | 47 |
| Cuadro 11. | Parámetros obtenidos con el ajuste para los efectos del Sacchapulido sobre la fibra detergente ácido del forraje Elefante..... | 48 |
| Cuadro 12. | Degradación efectiva ruminal de la materia seca del forraje Elefante y de los suplementos con diferentes tasas de recambio | 50 |
| Cuadro 13. | Degradación efectiva ruminal de la materia orgánica del forraje Elefante y de los suplementos con diferentes tasas de recambio | 50 |

| | | |
|-------------------|---|----|
| Cuadro 14. | Degradación efectiva ruminal de la fibra detergente neutro del forraje Elefante y de los suplementos con diferentes tasas de recambio..... | 51 |
| Cuadro 15. | Degradación efectiva ruminal de la fibra detergente ácido del forraje Elefante y de los suplementos con diferentes tasas de recambio..... | 51 |
| Cuadro 16. | Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la degradación efectiva ruminal de la materia seca del forraje Elefante con diferentes tasas de recambio ruminal..... | 52 |
| Cuadro 17. | Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la degradación efectiva ruminal de la materia orgánica del forraje Elefante con diferentes tasas de recambio ruminal..... | 53 |
| Cuadro 18. | Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la degradación efectiva ruminal de la fibra detergente neutro del forraje Elefante con diferentes tasas de recambio ruminal..... | 54 |
| Cuadro 19. | Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la degradación efectiva ruminal de la fibra detergente ácido del forraje Elefante con diferentes tasas de recambio ruminal..... | 54 |

INDICE DE FIGURAS

| | | |
|------------------|--|----|
| Figura 1. | Esquema tridimensional de la fibra de los forrajes..... | 7 |
| Figura 2. | Esquema del rumen..... | 10 |
| Figura 3. | Metabolismo de los carbohidratos en rumen..... | 16 |
| Figura 4. | Esquema de la degradación proteica bacteriana..... | 18 |
| Figura 5. | Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre el pH ruminal..... | 34 |
| Figura 6. | Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la concentración de N-NH ₃ ruminal..... | 35 |
| Figura 7. | Digestibilidad <i>in situ</i> de la materia seca del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea..... | 37 |
| Figura 8. | Digestibilidad <i>in situ</i> de la materia orgánica del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea..... | 38 |

| | | |
|-------------------|---|----|
| Figura 9. | Digestibilidad <i>in situ</i> de la fibra detergente neutro del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea..... | 39 |
| Figura 10. | Digestibilidad <i>in situ</i> de la fibra detergente ácido del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea..... | 39 |
| Figura 11. | Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la digestibilidad <i>in situ</i> de la materia seca (DIMS) del forraje Elefante..... | 41 |
| Figura 12. | Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la digestibilidad <i>in situ</i> de la materia orgánica (DIMO) del forraje Elefante..... | 41 |
| Figura 13. | Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la digestibilidad <i>in situ</i> de la fibra detergente neutro (DIFDN) del forraje Elefante..... | 42 |
| Figura 14. | Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la digestibilidad <i>in situ</i> de la fibra detergente ácido (DIFDA) del forraje Elefante | 42 |
| Figura 15. | Ajuste de la materia seca del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea, tomando en cuenta los residuales | 43 |
| Figura 16. | Ajuste de la fibra detergente neutro del forraje Elefante y del Sacchapulido, tomando en cuenta los residuales..... | 45 |
| Figura 17. | Ajuste de la fibra detergente ácido del forraje Elefante y del Sacchapulido, tomando en cuenta los residuales..... | 45 |
| Figura 18. | Ajuste de los efectos del Sacchapulido sobre la materia seca del forraje Elefante, tomando en cuenta los residuales..... | 46 |
| Figura 19. | Ajuste de los efectos del Sacchapulido sobre la fibra detergente neutro del forraje Elefante, tomando en cuenta los residuales..... | 48 |
| Figura 20. | Ajuste de los efectos del Sacchapulido sobre la fibra detergente ácido del forraje Elefante, tomando en cuenta los residuales..... | 49 |

Abreviaturas utilizadas en esta tesis

ACH: Ácido acético;

ATP: Adenosina Trifosfato;

AGV: Ácidos grasos volátiles;

BTH: Ácido butírico;

CC: Contenido celular;

DERMS: Degradación efectiva ruminal de la materia seca;

DERMO: Degradación efectiva ruminal de la materia orgánica;

dL: Decilitros;

EE: Error experimental;

FDA: Fibra detergente ácido;

FDN: Fibra neutro detergente;

FES: Fermentación en estado sólido;

k: Tasa de pasaje ruminal;

msnm: Metros sobre el nivel del mar;

mg: Miligramos;

MS: Materia seca;

MO: Materia orgánica;

NH₃: Amoníaco;

N-NH₃: Nitrógeno amoniacal;

NNP: Nitrógeno no proteínico;

NP: Nitrógeno proteínico;

NRC: National Research Council;

P: Probabilidad;

PB: Proteína bruta;

pH: Potencial de iones hidrogeno;

PRH: Ácido propiónico;

PV: Proteína verdadera;

SP: Sacchapulido;

U: Urea.

I. INTRODUCCIÓN

La ganadería moderna en las regiones tropicales, necesita cambios que conduzcan hacia la obtención eficiente de proteínas de origen animal (carne y leche) para la población humana, mediante el uso de recursos forrajeros de la región, maximizando la eficiencia de la función ruminal responsable de poder utilizar los pastos y forrajes como la principal fuente de alimentación y económicamente más barata (González y Rodríguez, 2003; Araujo, 2005; Ramos, 2005; Rosario, 2005; Ramos *et al.*, 2006).

Los pastos y los forrajes tropicales tienen deficiencias nutricionales, particularmente, baja digestibilidad de la materia seca (DMS), altos contenidos de fibra (FDN y FDA) y reducido contenido de proteína bruta (PB), lo cual limita la actividad microbiana en el rumen, el consumo voluntario y la producción de carne o leche; sin embargo, estos pastos pudieran ser utilizados más eficientemente cuando cada uno de los requerimientos bacterianos de energía, constituyentes proteínicos esenciales, amoníaco, minerales y otros son adecuadamente suplementados en las dietas.

La suplementación estratégica aumenta la eficiencia de utilización de los pastos ya que maximiza la celulólisis ruminal e incrementa sustancialmente la digestibilidad y el consumo voluntario; además, aumenta la capacidad de carga, mejora la ganancia de peso por animal y por unidad de superficie (Peruchena, 1999). Sin embargo, la suplementación con almidón puede disminuir el consumo voluntario y la digestibilidad, lo que pudiera estar en dependencia de la cantidad y estructura que se suministre.

El uso de concentrados comerciales no siempre está al alcance de los pequeños productores debido a sus altos costos en el mercado, lo cual conlleva a buscar alternativas más viables de alimentación, que sean económicamente factibles y con menos dependencia de los recursos externos, para que se puedan mantener precios ajustados a la realidad productiva de la ganadería, sin experimentar cambios muy drásticos como sucede normalmente. Al respecto, los alimentos fermentados a base de caña de azúcar (Ramos, 2005; Ramos *et al.*, 2006), pudieran ser una alternativa.

La caña de azúcar es el cultivo más eficiente en la captación de luz solar pero presenta deficiencias nutricionales, además, su alto contenido de carbohidratos solubles inhibe la celulólisis ruminal cuando se usa como dieta básica energética. En los procesos

biotecnológicos de fermentación en estado sólido (FES) de la caña de azúcar, los carbohidratos solubles pueden ser utilizados por los microorganismos autóctonos (Valiño *et al.*, 1994a y b) como fuente de energía para la conversión del nitrógeno no proteínico (NNP) de la urea en nitrógeno proteínico (NP) a través de un proceso físico-biológico (Elías, 1990). Durante el proceso, la eficiencia de conversión del NNP a NP, depende de los sustratos empleados.

El nitrógeno amoniacal (N-NH₃) es la principal fuente de nitrógeno (N) para la síntesis de proteína microbiana en el rumen; sin embargo, según Henderickx (1976) y Ruiz y Ayala (1987), lo óptimo para aumentar la celulólisis ruminal es de 8 mg dL⁻¹, arriba de este nivel, disminuye la eficiencia de utilización del N. En los alimentos fermentados a base de caña, la concentración del N-NH₃ en el producto final, depende del nivel de urea usado (Lezcano y Elías, 1992; Carrasco *et al.*, 1998a y b; Elías, 2000; Morgan, 2003).

Ramos (2007) estudió el efecto de alimentos a base de caña con 2% de urea obtenidos por FES en los patrones de fermentación ruminal de toretes estabulados con forraje. La concentración del N-NH₃ en rumen fue de 20.7, 12.3, 12.2 y 8.3 mg dL⁻¹, a las 2, 4, 6 y 12 horas (h) después de la suplementación, respectivamente. Los valores observados a las 2 h estuvieron por encima de los 8 mg dL⁻¹ y disminuyen a partir de las 4 h, en parte a que fue utilizado por las bacterias ruminales y posiblemente, otra parte atravesó la pared ruminal y fue transformado en urea en el hígado, lo cual resulta en un proceso ineficiente desde el punto de vista energético, ya que de acuerdo a Lehninger (1991) se requieren tres ATP por mol de urea formado. Por lo tanto el objetivo de esta investigación fue:

II. OBJETIVO GENERAL

Conocer el nivel de urea óptimo en el Sacchapulido que mejore la digestibilidad de la materia seca, fracción fibrosa y los patrones de fermentación ruminal en toretes alimentados con forraje Elefante (*Penisetum purpureum* Schumacher).

Objetivos específicos.

1. Conocer el nivel óptimo de urea en el Sacchapulido que mejore la digestibilidad *in situ* de la materia seca y fracción fibrosa del forraje *Penisetum purpureum* Schumacher.
2. Determinar la digestibilidad *in situ* de la materia seca y fracción fibrosa del Sacchapulido con los diferentes niveles de urea a estudiar.
3. Determinar los patrones de fermentación ruminal en toretes canulados en rumen suplementados con Sacchapulido con diferentes niveles de urea.

III. HIPÓTESIS

Existe un nivel óptimo de urea en el Sacchapulido, que incrementa la digestibilidad *in situ* de la materia seca y de la fracción de fibra del forraje.

Hipótesis específica.

- El nivel de urea óptimo en el Sacchapulido mantiene los patrones de fermentación ruminal en niveles adecuados para maximizar la celulólisis.
- El Sacchapulido con el nivel de urea óptimo, incrementa la degradación ruminal de la materia seca y la pared celular del forraje.
- El suplemento con el nivel de urea óptimo, incrementa la degradación ruminal de la materia seca y la pared celular del Sacchapulido.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Situación de la ganadería tropical

A pesar de la importancia económica de la ganadería en las regiones tropicales húmedas, esta presenta bajos niveles productivos. El conocimiento del valor nutritivo de los forrajes es limitado, sobre todo en lo referente a su digestión, al aporte de nutrientes para el animal por kilogramo de materia seca consumida (Valenciaga *et al.*, 2001; Rosario, 2005).

Román (1995), señaló que el potencial de producción bovina del trópico Mexicano es grande, debido a la capacidad fotosintética de las gramíneas, las cuales tienen alto potencial para la producción de biomasa; sin embargo, los pastos y forrajes tropicales presentan deficiencias nutricionales que repercuten negativamente en los índices de productividad (Peruchena, 1999; Garcés y Canudas, 2000; Valenciaga *et al.*, 2001; Obispo, 2005; Rosario, 2005).

A pesar que existen diversas alternativas de alimentación suplementarias como el uso de bancos de proteína (Díaz y Padilla, 2003), leguminosas asociadas (Ruiz *et al.*, 2003) mezcla melaza–urea (Delgado *et al.*, 2002), caña integral con urea (Aranda, 2000), alimentos fermentados a base de caña (Ramos *et al.*, 2006), uso de proteína de sobrepaso (Ramos *et al.*, 1998) para mejorar la producción de los bovinos en pastoreo, el sector ganadero las ha adoptado muy lentamente y la producción ganadera se ha dado con aumentos muy modestos en cuanto a índices de productividad.

El empleo de las especies forrajeras dentro de la producción de alimentos y en particular de los productos de origen animal, exigidos por la creciente presión demográfica, han señalado la importancia de desarrollar nuevos sistemas de explotación pecuaria a partir de la utilización de las grandes extensiones de tierra que existen en las regiones tropicales y subtropicales. Esto permite sugerir la necesidad de un mayor conocimiento de la biología y manejo de las especies forrajeras del trópico, con vistas a minimizar la utilización para la alimentación de los rumiantes, de granos y cereales u otros alimentos que el hombre pueda consumir (Elías, 1983).

Según Leng (1990), para lograr una máxima producción con los recursos forrajeros, es prioritario el establecimiento de un ecosistema ruminal donde se maximice la

digestibilidad de la fibra, complementando los elementos que limitan la capacidad fermentativa microbiana.

4.2. Características de los pastos tropicales

Los pastos tropicales son la fuente más barata para la alimentación de rumiantes (González y Rodríguez, 2003; Rosario, 2005; Ramos *et al.*, 2006); sin embargo, presenta deficiencias nutricionales, particularmente presentan bajos niveles de proteína y energía, altos niveles de la fracción fibrosa, lo cual tiene un efecto negativo en el consumo de forraje (Peruchena, 1999; Garcés y Canudas, 2000; Valenciaga *et al.*, 2001; Pineda, 2004; Garmendia, 2005), dado que el animal ocupa mayor tiempo en la degradación de la fibra y reduce su consumo voluntario, disminuyendo consecuentemente el consumo de nutrientes propios para el mantenimiento y para producción de carne o leche.

El clima tropical propicia una rápida maduración de la planta y su digestibilidad disminuye al aumentar el contenido de los carbohidratos estructurales, ya que estos se degradan lentamente en rumen, permaneciendo retenidas las porciones por más tiempo, lo cual disminuye el consumo voluntario y el flujo de nutrientes hacia el intestino (Pineda, 2004; Rosario, 2005).

El cambio de rendimiento y calidad de los pastos a través del año se refleja en la productividad de los rumiantes en pastoreo, ocasionando variación en el crecimiento, lo cual se manifiesta como pérdida o mantenimiento de peso o un crecimiento rápido. Para evitar esta variación en el comportamiento de los animales, se han establecido estrategias de alimentación suplementaria a los animales en pastoreo que permitan reducir las pérdidas de peso en las épocas críticas y mantener una mejor tasa de crecimiento (Delgado *et al.*, 1981; Ramos *et al.*, 2006).

El bajo nivel de nitrógeno en los forrajes tropicales es indicativo de la necesidad de su incorporación en la dieta (Preston y Leng, 1989; Peruchena, 1999; Rosario, 2005). Según Leng (1990) y Valdés *et al.* (1994), la complementación con nitrógeno en forma de proteína natural o de NNP incrementan las características digestivas de los forrajes de baja calidad, generando una máxima proliferación de microorganismos celulolíticos cuyos requerimientos simples de nitrógeno son cubiertos por la presencia de amoníaco (NH_3) en el rumen procedente de la degradación de la urea o de las proteínas.

4.3. Características y degradación de la fracción fibrosa de los pastos tropicales

La celulosa es el polisacárido que más abunda en la naturaleza, forma parte de la pared celular de los pastos (20 a 50 % de la MS), esta formada por cadenas lineales de glucosa, unidas por enlaces β -1,4 y constituye una de las mayores fuentes de energía para los rumiantes (Chesson y Forsberg, 1988; Wilson, 1994). La celulolisis ruminal es el proceso de transformación bioquímica de la celulosa en carbohidratos solubles, este proceso se lleva a cabo por los microorganismos ruminales que tienen la capacidad de secretar enzimas celulasas (Galindo *et al.*, 2005).

Los vertebrados en el curso de la evolución no han sido capaces de desarrollar en su organismo las enzimas que ataquen la configuración de los enlaces β 1-4 glucosídicos de la celulosa. En los rumiantes, esta ausencia no influye en la utilización de la fibra, ya que en el primer compartimiento (retículo-rumen) del estómago se ha establecido una microflora celulolítica que producen la enzima β 1-4 glucosidasa responsable de una fermentación pregástrica. En este proceso la celulosa y otros polímeros, constituyentes de la fibra se transforman en fuentes energéticas aprovechables por el animal en forma de ácidos grasos volátiles (AGV). Por lo anterior, el rumiante puede utilizar los alimentos fibrosos, más eficientemente que los animales de estómago simple, produciendo alimentos de alto valor biológico para el hombre (Elías, 1983).

La fibra es una entidad heterogénea formada por varios componentes químicos cuya estructura tridimensional es variable. Desde el punto de vista químico, la fibra se compone de un complejo esqueleto de celulosa, hemicelulosa y lignina. Desde el punto de vista de la nutrición de los rumiantes, la fibra puede definirse como el conjunto de componentes de los vegetales que tienen baja digestibilidad y promueven la rumia y el equilibrio ruminal (Galindo *et al.*, 2005). Sin embargo, el exceso de fibra reduce la capacidad de ingestión de alimentos, la digestibilidad de la ración, la síntesis de proteína microbiana ruminal, y el aporte de energía (Calsamiglia, 1997).

Pineda (2004), menciona que la lignocelulosa esta formada por dos paredes: la primaria y la secundaria (Figura 1). La primaria esta compuesta por 90 % de polisacáridos (microfibrillas de celulosa, pectina y hemicelulosa) y 10 % de proteínas. La pared secundaria se sitúa envolviendo a la primaria y se genera cuando la planta alcanza su madurez, incrementándose la cantidad de celulosa, hemicelulosa y lignina. En la fibra

celulósica hay alrededor de 40 cadenas de glucosa, denominada glucanos, son fuertes y se alinean por láminas sostenidas por puentes de hidrógeno, estos proporcionan una gran fuerza y resistencia a la degradación química.

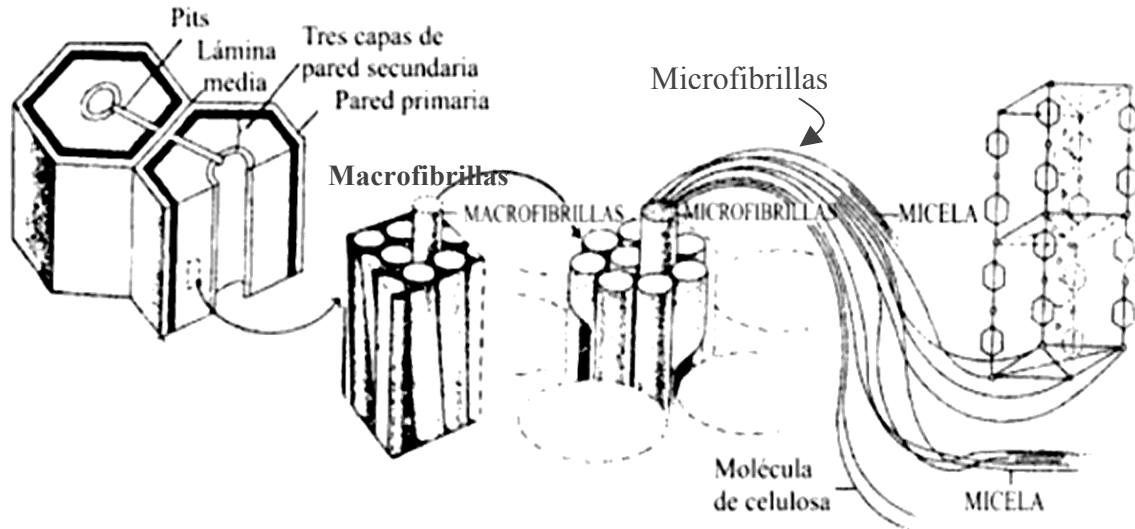


Figura 1. Esquema tridimensional de la fibra de los forrajes (Estrada, 2002)

Otro de los hidratos de carbono de la pared celular lo constituye la hemicelulosa, que es un polisacárido amorfo formado de cadenas cortas de glucanos, polímeros de xilosa, arabinosa, galactosa y ácidos glucorónico y galacturónico. Así mismo, el contenido de hemicelulosa varía según el tipo vegetal, pero oscila en un rango de 30 a 40 %. El principal componente de la fracción hemicelulósica lo compone el xilano, estas unidades de monosacáridos y sus derivados están unidos de forma continua por enlaces glucosídicos 1-3, 1-4 y 1-6. En su mayoría son moléculas lineales aunque pueden poseer ramificaciones cortas (Pineda, 2004).

Por otra parte, la lignina es un complejo tridimensional formado por un polímero de fenilpropano carbohidratado y constituye una de las partes más insolubles de la pared celular de las plantas debido a su estrecha asociación mediante los enlaces covalentes con los polisacáridos de la pared, frecuentemente actúa como barrera física que impide la degradación microbiana de estos compuestos (Galindo *et al.*, 2005).

La degradabilidad del material vegetal fibroso, está dada por la acción enzimática de los microorganismos, la cual a su vez está sujeta a varios factores como: el tamaño, la forma

y el área de superficie de los capilares de la pared celular, además de la capacidad de adherencia de los microbios (Aguilera, 1988).

Las bacterias celulolíticas (*Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Fibrobacter succinogenes*) se adhieren, seccionan y dañan la superficie de la pared celular como primer paso del proceso de degradación, algunos hongos y protozoarios (*Neocallimastix frontalis*, *Polyplastron multivesiculatum*, *Eudiplodinium maggii*, *Epidinium ecaudatum* y *Eremoplaston bovis*) son atraídos a través de quimiorreceptores hasta el sitio de colonización, enquistándose e invadiendo el tejido vegetal (Fondevila y Dehority, 1996; Russell y Wilson, 1996; Weimer, 1996; Matsui *et al.*, 1998).

La digestión de la celulosa, se lleva a cabo a través de la acción enzimática (celulasas) de los microbios ruminales; rompiendo el polímero, en pequeñas moléculas de diferente peso molecular como oligosacáridos, di o tri sacáridos (celobiosa y celotriosa), en monómeros glucosa, en pequeños alcoholes, ácidos grasos volátiles, cetonas, metano, bióxido de carbono y agua. Las enzimas bacterianas de acción celulolítica se clasifican en tipo “exo” y “endo”, las primeras producen la separación de los azúcares, comenzando por el extremo reductor de la cadena β -1,4 glucano y el tipo “endo” actúa sobre los enlaces β -1,4 glucosídicos. Las enzimas de los hongos se clasifican en tres tipos: las endo- β -1,4-gluconasas, las exo- β -1,4-gluconasas y las 1,4- β -glucosidasas; las primeras rompen los enlaces glucosídicos internos, resultando celulo-dextrinas solubles en agua. Las “exo” reducen la celulosa a celobiosa y glucosa, la última hidrolizan las celulo-dextrinas y la celobiosa, para obtener glucosa (Chesson y Forsberg, 1988).

La fermentación de la hemicelulosa, se lleva a cabo por acción enzimática, liberando el disacárido xilobiosa, a través de la enzima xilosidasa. Esta actividad representa la hidrólisis a las uniones α -1,4-xilosídicas por la hemicelulasa. Los protozoarios (*Eudiplodinium maggii*, *Epidinium ecaudatum* y *Eremoplaston bovis*), participan activamente en la producción de enzimas hemicelulasas y/o xilanasas (Chesson y Forsberg, 1988).

4.4. Características del pasto *Penisetum purpureum* (Elefante)

El *Penisetum purpureum* es una gramínea perenne alta, de porte erecto, con tallos gruesos, hasta de 4.5 m de alto. Se encuentra en suelos húmedos de zonas con más de 1000 mm de precipitación anual, tolera sequías breves, pero no el anegamiento, es una de las gramíneas forrajera más cultivadas; rinde grandes cantidades de materia seca, pero su contenido de proteína es bajo, salvo cuando se corta muy tierna. En el manejo de esta especie no deben realizarse cortes demasiados bajos, nunca por debajo de los 15 cm. Es importante buscar un equilibrio entre el rendimiento y la calidad nutritiva, ya que a mayor tamaño del pasto obtienen mejores rendimientos pero de menor calidad y viceversa. Por ello se recomienda cortar el pasto cuando alcanza una altura de 1.6 a 2 m, para obtener una buena producción, así como riqueza alimenticia; con un buen manejo, se pueden obtener de 3 a 4 cortes al año. En la época de lluvias y con niveles altos de fertilización nitrogenada, los rendimientos se incrementan alcanzando en promedio 100 t ha⁻¹.

El forraje puede ofertarse en verde picado para que las hojas y tallos se mezclen bien, resultando en un alimento succulento para el ganado. Esta especie, al igual que otras gramíneas tropicales, se ve influenciada por el estado de madurez, disminuyendo la cantidad de proteína e incrementando los niveles de fibra. En este contexto, el contenido de proteína oscila entre 15.1 % en una hierba fresca hasta 4.2 % para un material maduro de porte alto y con un estado de madurez avanzada. De la misma manera, la cantidad de fibra se hace presente en niveles desde los muy favorables como 28.6 % hasta por los desfavorables de 40 % y más (Pineda, 2004).

4.5. Generalidades de la nutrición en rumiantes

Los rumiantes tienen la habilidad de utilizar los forrajes como fuente principal de alimentación, así mismo establecen una relación simbiótica estrecha con los microorganismos que habitan en el rumen (Hart *et al.*, 2008). El rumen ofrece un hábitat ideal para el crecimiento de los microorganismos ruminales (Cardozo, 2005; Ángeles, 2006), los cuales son anaeróbicos, siendo el rumen una gran cámara de fermentación (Figura 2). Es el reservorio más voluminoso del aparato digestivo de los rumiantes y

representa del 70 a 75 % del contenido total del tracto digestivo y del 50 a 60% de su volumen (Galindo *et al.*, 2005).

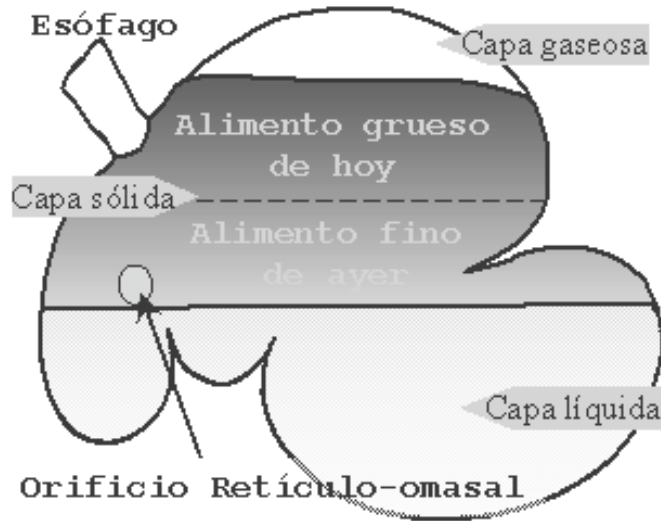


Figura 2. Esquema del rumen (Galindo *et al.*, 2005)

Según Nava y Díaz (2001), el alimento y los productos de la fermentación generalmente se acomodan en tres capas dependiendo de su gravedad específica:

- 1) Capa gaseosa. Localizada en la parte superior, en ella se encuentran los gases producidos durante la fermentación de los alimentos ingeridos.
- 2) Capa sólida. Formada principalmente por alimento y microorganismos flotantes. El alimento consumido más recientemente se establece en la parte superior de esta capa, debido a que posee partículas de gran tamaño (1 a 2 cm). El alimento consumido con más anterioridad se localiza al fondo de la capa sólida, debido a que ya fue fermentado suficientemente presentando una reducción en su tamaño (2 a 3 mm) y puede ser captado por el retículo y salir a través del orificio retículo-omasal.
- 3) Capa líquida. Localizada ventralmente conteniendo líquido con pequeñas partículas de alimento y microorganismos suspendidos.

Según Church y Pond (1996), Church *et al.* (2002) y Galindo *et al.* (2005), en condiciones normales de manejo y alimentación, el contenido ruminal se mantiene relativamente constante y se caracteriza por:

- Concentración elevada de agua (85 a 90 %).
- Temperatura constante (39 a 40 °C).
- Potencial de oxidación–reducción que varía entre –250 a –400 mV. Este bajo potencial redox garantiza las condiciones de anaerobiosis necesarias para el desarrollo de los microorganismos.
- pH generalmente comprendido entre 6 y 7, el que es regulado por varios factores, entre los que se pueden mencionar el aporte de bicarbonatos y fosfatos procedentes de la saliva (estimulado por la rumia), la cual posee un pH de 8.3.
- Presión osmótica relativamente constante (290 a 320 mOsmol).
- Aporte regular de nutrientes para los microorganismos y el animal hospedero, procedente de la ingestión de alimentos.
- Eliminación permanente de productos finales del metabolismo por absorción directa a través de las paredes del rumen o por pasaje hacia las partes bajas del tracto gastrointestinal y por la eructación.
- Atmósfera relativamente constante de gases situados al nivel del saco dorsal. La fase gaseosa del rumen se compone principalmente de CO₂, CH₄, N₂, H₂S, e H₂.

El rumiante funcional proporciona alimento masticado y un medio líquido anaeróbico, con temperatura y pH adecuado para los microorganismos ruminales (Galindo *et al.*, 2005; Ángeles, 2006). A cambio, éstos fermentan los alimentos que ingresan al rumen y aportan ácidos grasos volátiles (AGV) y proteína microbiana de alta calidad al rumiante (Calsamiglia, 1997; Galindo *et al.*, 2005; Hart *et al.*, 2008).

La optimización de la producción del rumiante, requiere del mantenimiento de las condiciones adecuadas del medio ruminal (pH y N–NH₃). Los microorganismos ruminales se encargan de degradar los carbohidratos y las proteínas de forma total o parcial a monómeros para su fermentación y absorción (Hoover y Stokes, 1991; Erasmus *et al.*, 1994; Ángeles, 2006), con el objetivo principal de obtener energía y proteína microbiana (Russell *et al.*, 1992; Dewhursts *et al.*, 2000). La proteína microbiana es el

principal aporte de proteína para el rumiante, y se digiere y absorbe por el animal para su utilización (Coomer *et al.*, 1993; Hart *et al.*, 2008).

4.5.1. Fermentación ruminal

Las bacterias, levaduras, protozoarios y hongos ruminales son los responsables de la fermentación (Russell y Wilson, 1996). Según Rosario (2005), cuando el rumiante se alimenta con forrajes, los microorganismos predominantes son aquellos que digieren la fracción fibrosa (celulosa y hemicelulosa). La fermentación ruminal le permite al rumiante utilizar alimentos fibrosos e indigestible para los no rumiantes permitiendo la síntesis de proteína microbiana de alto valor biológico a partir de proteína vegetal de bajo valor biológico, a partir de nitrógeno no proteico (NNP) de la dieta y a partir del reciclaje de productos metabólicos de desecho (urea), además, provee todas las vitaminas del complejo B siempre y cuando exista la concentración adecuada de cobalto para la síntesis de vitamina B12.

El rumiante debe tener acceso al alimento a intervalos regulares y necesita pasar una buena parte del día (aproximadamente 8 horas) rumiando para adicionar continuamente grandes cantidades de saliva con naturaleza alcalina para mantener su cámara de fermentación trabajando eficientemente, además, requiere de mecanismos para la eliminación de gases producto de la fermentación (eructo) y para la regurgitación (rumia).

4.5.1.1. pH ruminal

El pH es uno de los factores más relevantes para mantener un ambiente ruminal óptimo para el desarrollo y crecimiento de la población microbiana, la disminución del pH ruminal desencadena respuestas metabólicas y fisiológicas que disminuyen la eficiencia productiva en rumiantes, condición conocida como acidosis ruminal subaguda. Ésta es una enfermedad asintomática que reduce el consumo de alimento y la producción en rumiantes (Cobos *et al.*, 2005). La rumia estimula la producción de saliva, regulando los niveles de pH normales en rumen, manteniéndolo constante, debido a que es rica en fosfatos y bicarbonatos, actúa como amortiguador por su efecto tampón, controlando el efecto de los ácidos (AGV y ácido láctico) que se producen durante la fermentación (Nava y Díaz, 2001).

Según Galindo *et al.* (2005), pH entre 6 y 7 es ideal en el rumen; sin embargo, Cobos *et al.* (2005), señalaron como rango óptimo de pH 6.2 a 7.0 para maximizar la eficiencia fermentativa de las bacterias ruminales. Por otro lado, Elías (1983), señaló que el pH óptimo para maximizar la celulólisis ruminal es de 6.6 a 6.8, y que valores por debajo de 6, tienen efecto depresivo en la celulólisis ruminal. Así mismo, Pineda (2004), mencionó que pH de 6.4 a 7.0 es ideal para los microorganismos celulolíticos (*Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Fibrobacter succinogenes*, *Eudiplodinium maggii*, *Epidinium ecaudatum* y *Eremoplaston bovis*). Calsamiglia *et al.* (2008), evaluaron dos dietas, una con base de forraje (FOR= 60 % heno de ryegrass y heno de alfalfa y 40 % concentrado) y otra a base de concentrado (CON= 10 % paja y 90 % concentrado), encontraron que a un pH por debajo de 6 se observó una disminución aguda en la digestibilidad de la fracción fibrosa de los alimentos, por lo cual concluyeron que es esencial que el pH ruminal se mantenga por encima de 6.0 para garantizar las condiciones idóneas para su funcionamiento.

4.5.1.2. Nitrógeno amoniacal (N-NH₃) en rumen

El amoníaco es la principal fuente de nitrógeno (N) para la síntesis de proteína microbiana en rumen (Mackie y White, 1990). Cuando no hay disponibilidad de péptidos y aminoácidos, todo el N debe provenir del NH₃ (Russell *et al.*, 1992). La concentración del N amoniacal en rumen se puede utilizar como índice, que permita valorar la disponibilidad del N en el rumen e hipotéticamente el crecimiento microbiano (Gargallo, 2006). Un nivel alto y constante de NH₃ en rumen regula el pH (Hristov y Ropp, 2003) y estimula el consumo voluntario, además, aumenta la digestibilidad de la dieta (Leng, 1990).

La concentración de NH₃ en rumen está directamente relacionada con la concentración de carbohidratos en la dieta; si la energía es limitante en el rumen, los microorganismos degradan la proteína del alimento a amoníaco y el NH₃ que se forma por los microorganismos ruminales no es utilizado (Hristov y Ropp, 2003). Los carbohidratos estructurales no están disponibles inmediatamente para que los microorganismos ruminales los usen como fuente de energía; debido a esta no sincronización, se incrementa la cantidad de NH₃ que se transforma a urea en el hígado, lo cual ocasiona un gasto extra de energía para el animal y disminuye la eficiencia de utilización del N.

A pesar de la importancia del NH_3 para la síntesis de proteínas microbianas, existe un límite en la cantidad que pueden utilizar los microorganismos, por encima de ese límite, es absorbido y transformado en urea en el hígado. La urea se recicla al rúmen a través de la saliva y por medio de la pared ruminal, directamente desde la sangre (Church y Pond, 1996). La mayor parte de la urea formada no se utiliza por el animal y se excreta en la orina; esto ocasiona una pérdida de energía en el catabolismo, ya que, por cada molécula de urea formada, se requieren tres ATP de energía (Lehninger, 1991).

Por otro lado, existe una pequeña porción de urea que regresa al rumen a través de la saliva o su difusión de la sangre al rumen.

Si la ración es deficiente en proteína o la proteína es resistente a la degradación microbiana, la concentración de N-NH_3 en el rumen puede llegar a ser excesivamente baja, y comprometer el crecimiento de las bacterias y afectar la degradación de los nutrientes de la ración (Cardozo, 2005).

Para maximizar la síntesis de la proteína microbiana en el rumen, se requiere oportunamente, fuentes de N y carbohidratos disponibles de la dieta como fuente de energía para los microorganismos del rumen y así poder utilizar eficientemente el NH_3 en la síntesis de aminoácidos (Casper *et al.*, 1999; Araque *et al.*, 2000; McCormick *et al.*, 2001).

Henderickx (1976) y Ruiz y Ayala (1987) señalaron como punto óptimo, 8 mg dL^{-1} de N-NH_3 para maximizar la síntesis de proteína microbiana, Galindo *et al.* (2005) señalaron como niveles óptimos entre 5 a 8 mg dL^{-1} para maximizar la síntesis de proteína microbiana.

La velocidad de degradación de los alimentos puede afectar la eficiencia de la síntesis de proteína en rumen (Hoover y Stokes, 1991; Russell *et al.*, 1992). Si el ritmo de degradación de la proteína es muy superior al ritmo de fermentación de los carbohidratos, se producirá un exceso de NH_3 , mientras que si la fermentación de carbohidratos supera a la degradación de proteínas disminuirá la síntesis microbiana (Nocek y Russell, 1988), por lo que debe existir una sincronía. Aunque existen numerosos factores que afectan a la síntesis de proteína microbiana (Clark *et al.*, 1992).

4.5.1.3. Ácidos grasos volátiles (AGV) en rumen

Los AGV son productos de desecho de la fermentación bacteriana ruminal y para el rumiante en pastoreo son la principal fuente de energía metabolizable (Araujo, 2005). Pueden estar en forma lineal o de cadena corta (acético, propiónico, butírico, valérico) o bien como cadenas ramificadas (isobutírico, isovalérico, 2-metil butírico).

Los AGV de cadena corta suman más del 95 % de AGV producidos en el rumen, la mayoría son absorbidos a través de la pared del rumen (80 a 90 %) y el resto (10 a 20 %) serán absorbidos en el omaso y abomaso. La fermentación de algunos aminoácidos (leucina, isoleucina y valina) en el rumen produce los AGV de cadena ramificada.

En la síntesis del ácido acético y del butírico se forman los dos precursores (H_2 y CO_2) del metano (CH_4). El CO_2 y el CH_4 son eructados y la energía se pierde como subproducto necesario de la fermentación anaeróbica de los azúcares. Durante el proceso de fermentación se produce energía (ATP) que se utilizará para el mantenimiento y crecimiento de la población microbiana (Castillejos, 2005).

La producción de leche esta muy condicionada por la cantidad de propionato producido en el rumen y metabolizado en el hígado a glucosa, este es el único AGV gluconeogénico (Pineda, 2004) y su rendimiento energético es de 17 moles de ATP por mol de ácido propiónico (Baldwin y Allison, 1983). La mayoría del ácido butírico (80 %) se convierte en la pared del rumen en cetonas, principalmente β -hidroxibutirato. Éste se oxida en los músculos cardiacos y esqueléticos como fuente de energía, y se utiliza en la síntesis de ácidos grasos en el tejido adiposo y en la glándula mamaria. El acetato y β -hidroxibutirato son precursores de casi la mitad de la grasa de la leche que se sintetiza en la glándula mamaria, y la otra mitad proviene de los lípidos movilizados del tejido adiposo o directamente de la ración.

4.5.2. Degradación de los carbohidratos en rumen

Los microorganismos ruminales fermentan los carbohidratos del alimento mediante enzimas microbianas extracelulares hasta azúcares sencillos como pentosas, hexosas, etc. (Figura 3). Estos azúcares son absorbidos y metabolizados inmediatamente por los microorganismos hasta convertirlos AGV, gases (CH_4 y CO_2), energía y calor.

Los carbohidratos son polihidroxialdehidos o polihidroxicetonas que desde el punto de vista de la nutrición de los rumiantes se clasifican en carbohidratos fibrosos o estructurales (celulosa, hemicelulosa) y no fibrosos o no estructurales (almidones y

azúcares simples), las pectinas son constituyentes de la pared celular, aunque no se consideran parte de los carbohidratos fibrosos porque su comportamiento digestivo es similar a los almidones (Nocek y Tamminga, 1991).

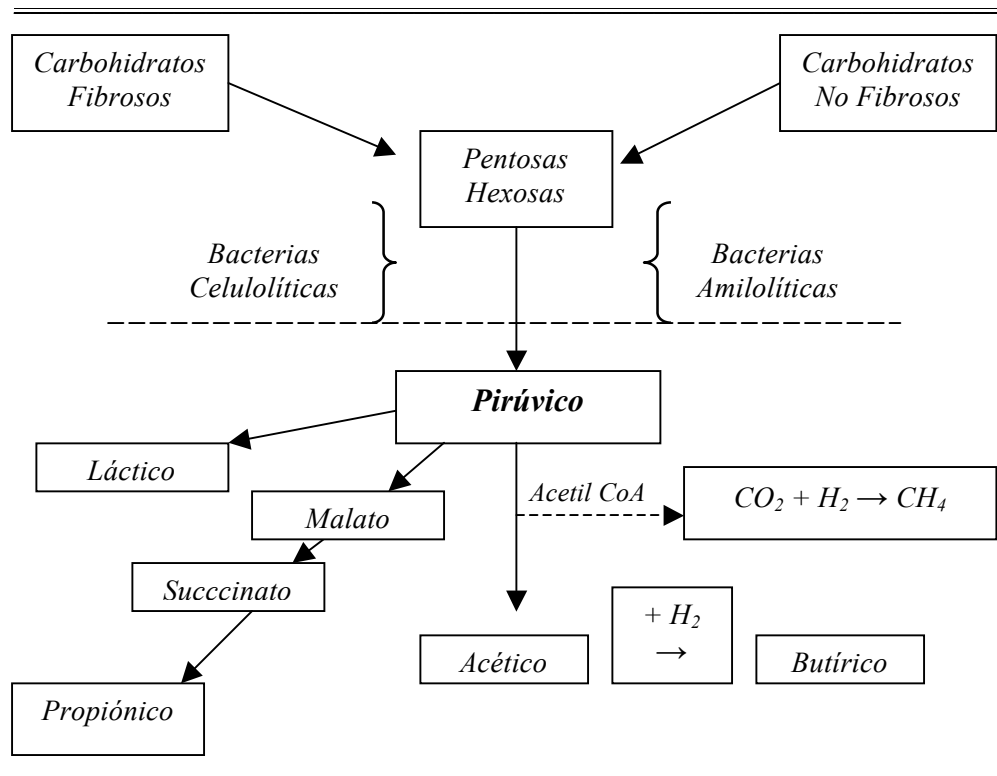


Figura 3. Metabolismo de los carbohidratos en rumen (Castillejos, 2005)

El proceso de fermentación ruminal de los carbohidratos (tanto estructurales y no estructurales) se inicia con la adhesión y colonización microbiana de las partículas vegetales ingeridas por el animal. Existen dos etapas de degradación de los carbohidratos: la primera, consiste en la degradación de los carbohidratos complejos mediante enzimas celulasas y hemicelulasas hidrolizando los carbohidratos hasta hexosas y pentosas. El almidón y los azúcares simples son hidrolizados por las amilasas, maltasas, maltosa fosforilasa y 1,6–glucosidasas hasta hexosas. La segunda etapa consiste en una fermentación intracelular de las pentosas y hexosas hasta sintetizar ácido pirúvico (Cardozo, 2005).

El piruvato es el componente intermedio a través del cual deben pasar todos los carbohidratos hasta la formación de los AGV, principalmente acetato, propionato y butirato (Figura 3). Las bacterias celulolíticas ruminales utilizan mayoritariamente la vía metabólica piruvato–formatoliasa para producir acetato, esta vía metabólica produce la descarboxilación del piruvato y da origen a la formación de Acetil–CoA y formato como productos intermedios. El formato es transformado en CO₂ e H₂ los cuales son precursores para la formación de metano (CH₄), que a su vez se pierde a través del eructo.

El tipo de carbohidrato en la dieta condiciona la actividad fermentativa de los microorganismos en rumen (Elías, 2000). Una dieta rica en forrajes aporta un mayor contenido de carbohidratos estructurales, proliferando las bacterias celulolíticas y hemicelulolíticas, y una dieta rica en granos (carbohidratos no estructurales) favorece el desarrollo y la actividad de las bacterias amilolíticas las cuales se degradan y fermentan rápidamente los almidón y azúcares, hasta producir propionato sin que existan pérdidas de carbono, reduciendo las pérdidas energéticas en forma de CH₄ (Van Soest *et al.*, 1991; Cardozo, 2005); sin embargo, no estimulan la rumia ni la producción de saliva favoreciendo la producción de ácido láctico y la reducción de pH en rumen (Nocek, 1997), hasta llegar a inhibir la digestibilidad de la fracción fibrosa de los forrajes (Mouriño *et al.*, 2001; Cardozo, 2005; Rosario, 2005). Por otra parte, las pectinas se fermentan a acetato, reduciendo el riesgo de una acidosis (Castillejos, 2005).

Una dieta rica en azúcares (melaza), según Elías *et al.* (1968), favorece el desarrollo de bacterias sacarolíticas, las cuales fermentan rápidamente los azúcares hasta producir alta proporción de acetato y butirato en relación al propionato (Elías, 1988; Elías, 2000; Elías, 2006).

4.5.3. Degradación de las proteínas en rumen

La proteína ingerida por el rumiante es sometida a una extensiva degradación por parte de los microorganismos, la proporción de proteína degradada depende de su resistencia a la degradación y del tiempo que permanezca en el rumen, aunque puede variar según la actividad proteolítica de la población microbiana, varias especies de bacterias, protozoarios y hongos anaeróbicos participan en esta actividad proteolítica mediante la elaboración de diversas proteasas, peptidasas y desaminasas (Wallace, 1996; Gargallo,

2006). Las bacterias ruminales son el principal grupo microbiano implicado en el metabolismo de las proteínas, las especies bacterianas más conocidas por su actividad proteolítica pero con baja actividad desaminasa son: *Bacteroides amylophilus*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Prevotella ruminicola* (antes *Bacteroides*) y *Streptococcus bovis* y las numéricamente menos importante, pero con gran actividad desaminasa son *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium sticklandii* y *Clostridium aminophilum* (Wallace, 1996).

La mayoría de proteasas bacterianas están asociadas a la pared bacteriana (Kopecny y Wallace, 1982), de manera que el primer paso para la degradación de la proteína es la adhesión de las bacterias a las partículas de alimento (Wallace, 1985), dicha degradación consiste inicialmente en una hidrólisis de los enlaces peptídicos mediante las proteasas y peptidasas, de la que se obtienen oligopeptidos que posteriormente se degradan a péptidos de menor tamaño y a algunos aminoácidos libres que serán absorbidos rápidamente al interior de la célula bacteriana, estos pueden ser utilizados directamente por los microorganismos ruminales o bien ser desaminados para producir NH_3 y cadenas carbonadas (Bach *et al.*, 2005). A su vez, las cadenas carbonadas pueden ser utilizadas junto con el NH_3 para sintetizar nuevos aminoácidos que serán incorporados a la proteína microbiana, o ser descarboxiladas dando lugar a los AGV y el CO_2 (Figura 4).

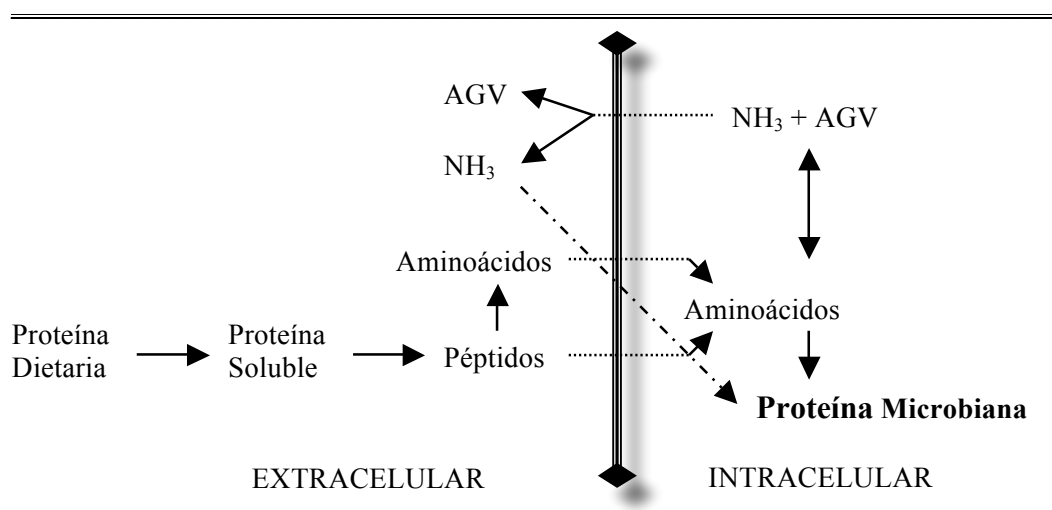


Figura 4. Esquema de la degradación proteica bacteriana (Gargallo, 2006)

La desaminación de los aminoácidos ramificados proporciona AGV de cadena ramificada, los cuales son utilizados por las bacterias como factores de crecimiento (Gargallo, 2006).

La mayoría de las bacterias proteolíticas aisladas del rumen producen NH_3 , aunque poseen actividad específica de desaminación de las proteínas relativamente baja. Estas bacterias Gram negativas son productoras de pequeñas cantidades de amoníaco a partir de proteína entera y proteína hidrolizada. Aunque pueden utilizar aminoácidos o péptidos como fuente de energía para su crecimiento, la mayor parte de la energía la obtienen de la fermentación de los carbohidratos.

Existe un grupo bacteriano numéricamente poco importante, aunque con una elevada actividad específica desanimadora, con la capacidad de crecer rápidamente en presencia de aminoácidos y péptidos, pero que utilizan mal los carbohidratos (Chen y Russell 1989a; Paster *et al.*, 1993). A este tipo de bacterias que utilizan péptidos y aminoácidos, y no carbohidratos, como principal fuente de energía, se les denominó bacterias hiperproductoras de NH_3 (Chen y Russell, 1989b). Las especies bacterianas aisladas de este tipo se identificaron como *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium sticklandii* y *Clostridium aminophilum* (Paster *et al.*, 1993).

En el rumen existe una flora asociada a la pared ruminal con actividad proteolítica, diferente a la del contenido ruminal. Estas bacterias tienen una alta actividad específica, pero su número es bajo en comparación al contenido total del rumen, y su contribución a la proteólisis está limitada a la pared ruminal (Castillejos, 2005).

A diferencia de las bacterias, los protozoarios son capaces de ingerir pequeñas partículas, ingiriendo bacterias, hongos y pequeñas partículas suspendidas en rumen. La mayor actividad proteolítica la ejercen sobre las bacterias ruminales y son los principales responsables del reciclaje de proteína microbiana en el rumen (Gargallo, 2006). Los protozoos engolfan a las bacterias mediante vesículas citoplasmáticas y la mayoría son matadas y digeridas con alguna liberación de productos de la digestión en el medio. La actividad predatoria de los protozoos reduce el tamaño de la población bacteriana ruminal y puede influir en las proporciones relativas de los tipos de bacterias presentes (Galindo *et al.*, 2005).

La información sobre la interrelación entre hongos y protozoarios en el rumen es limitada. Las zoosporas individuales de hongos pueden ser ocasionalmente engolfadas por los protozoarios ciliados del rumen. La quitina, un componente común en la pared celular de los hongos, es un polisacárido formado por N – acetil –D– glucosamina y es extremadamente resistente a la degradación por microorganismos. La hidrólisis completa de la quitina se produce por un sistema quitinolítico, que consiste en dos hidrolasas, cuyas acciones se efectúan de manera consecutivas. En la degradación de células de hongos, se han demostrado en diferentes trabajos que los protozoarios del rumen poseen un sistema quitinolítico con actividad quitinasa y N–acetil – β –D– glucosaminidasa (Galindo *et al.*, 2005).

En el caso de los hongos anaeróbicos en la degradación de la proteína en el rumen, su participación consiste principalmente en colonizar y degradar los tejidos lignificados de las plantas (Gargallo, 2006).

Según el NRC (2001) y Bach *et al.* (2005), las características de las proteínas más determinantes en su degradación ruminal son su estructura tridimensional, la presencia de uniones intra e intermoleculares que dificultan el acceso de las enzimas proteolíticas, la presencia de barreras físicas como las paredes celulares que impiden el acceso de las bacterias y la presencia de factores antinutricionales que reducen o inhiben la proteólisis. Así mismo, Gargallo (2006), mencionó también, las proporciones de NNP y proteína verdadera, y las características físicas y químicas de esta fracción de proteína verdadera. Los compuestos de NNP se degradan muy rápidamente en el rumen. Existe un tipo de proteína que no se degrada en el rumen, llamada “*by pass*” o de baja degradabilidad ruminal, es una porción de proteína alimentaria que escapa de la degradación ruminal y llega al intestino del rumiante donde será digerida para aportar proteína.

Según NRC (2001), el 100 % de la proteína alimentaria no degradada en rumen es proteína verdadera. La proteína microbiana sintetizada en el rumen es una fuente de aminoácidos absorbibles de muy buena calidad por su excelente perfil de aminoácidos que la conforman (Gargallo, 2006).

4.6. Cinética de degradación ruminal

La cinética de la degradación de los alimentos en rumen, involucra por lo general dos fracciones, las cuales fueron propuestas y descritas con el modelo de Ørskov y McDonald (1979), plantean dicha cinética como la curva resultante del porcentaje de degradación de un material alimenticio en rumen después de cierto tiempo de incubación por efecto de los microorganismos ruminales, proponen la existencia de una fracción soluble, la cual representa las pérdidas por efecto de lavado, puede ser denominada como degradación inicial y es a su vez el intercepto en la curva de degradación al inicio de la incubación (hora 0).

Así mismo, proponen una fracción insoluble, pero potencialmente degradable por acción de los microorganismos ruminales, esta se alcanza a un tiempo máximo de incubación en rumen, denominándose degradación máxima. Además, proponen la degradación potencial como la suma de la fracción soluble más la degradación máxima, la cual representa la máxima cantidad de material alimenticio que puede ser disuelto y degradado en rumen a un tiempo suficiente; así mismo, proponen una tasa de degradación la cual representa el índice o velocidad a la que el material potencialmente degradable se degrada en rumen por hora ($\% \text{ h}^{-1}$).

Igualmente, proponen una degradación efectiva, la cual representa la cantidad de material que en realidad será degradado en rumen por efecto de los microorganismos, considerando la degradación potencial, la tasa de degradación y sobre todo la tasa de pasaje ruminal, la cual representa la cantidad de sólidos que pasan del retículo-rumen hacia el omaso ($\% \text{ h}^{-1}$).

Por otra parte, McDonald (1981) propuso una modificación al modelo de Ørskov y McDonald (1979) considerando que existen alimentos que no son inmediatamente degradados en rumen, y que demandan un tiempo de colonización por parte de los microorganismos ruminales, por lo que propuso añadir un tiempo denominándola fase *lag* o de colonización. La magnitud de la degradación del alimento dependerá del tiempo que permanezca en el rumen.

4.7. Concepto de fermentación

Según Ramírez (2003), la fermentación es un proceso metabólico de oxidación y puede ser aeróbico cuando tiene lugar en presencia de oxígeno y anaeróbico si se producen fuera del contacto con el oxígeno. Durante la fermentación, los microorganismos oxidan los hidratos de carbono de la materia orgánica, proporcionando esqueletos carbonados y energía en forma de ATP para el crecimiento de los mismos y liberando principalmente dióxido de carbono (CO_2), amonio (NH_4), nitrógeno (N_2) y agua (H_2O) cuando es aeróbico y, metano (CH_4), bióxido de carbono (CO_2), amoniaco (NH_3), ácido sulfhídrico (SH_2) y nitrógeno (N_2) y hidrógeno (H_2) cuando es anaeróbico.

Los procesos fermentativos se pueden dividir en fermentación líquida sumergida (FLS) y fermentación en estado sólido (FES). La mayor diferencia entre estos dos procesos biológicos, es la cantidad de líquido libre en el sustrato. En las FLS existe agua libre en el sistema y las FES se caracterizan por desarrollarse en sustratos sólidos húmedos, donde no existe agua libre en el sistema (Julián y Ramos, 2007).

En los últimos años, la FES ha mostrado ser muy prometedora en el desarrollo de algunos bioprocesos y productos; y se ha evaluado el potencial de varios productos que pueden ser obtenidos por este método (Sancho, 2004).

4.8. Fermentación en estado sólido de la caña de azúcar

La caña de azúcar es una gramínea perenne adaptada al ambiente tropical y subtropical que tradicionalmente se ha usado para la producción de azúcar (Perafán, 2007). Se ha considerado como un recurso forrajero con potencial en la producción bovina, debido a su gran producción de biomasa por unidad de superficie (Alexander, 1988; Molina, 1990); sin embargo, presenta deficiencias nutricionales, tiene bajo contenido de proteína, minerales y digestibilidad de la fibra (Aranda, 2000; Cano *et al.*, 2003; Martín, 2004); su concentración de azúcares (sacarosa, fructosa y glucosa) se incrementa con la edad de la planta, los cuales pueden ser usados en procesos de fermentación aeróbica como fuente de energía para el crecimiento microbiano. Al respecto, Elías *et al.* (1990), desarrollaron una tecnología de enriquecimiento proteico de la caña de azúcar (*Saccharina*) a partir de un proceso de FES.

Durante el proceso de FES, los carbohidratos solubles de la caña son utilizados por los microorganismos autóctonos (Valiño *et al.*, 1994a y b) como fuente de energía para la conversión del NNP de la urea en NP a través de un proceso físico – biológico (Elías *et al.*, 1990), lo anterior es posible, debido a que algunas especies poseen la enzima ureasa para hidrolizar la urea y liberar NH₃, el cual puede ser usado por otras bacterias y levaduras que no poseen esta enzima. El amoníaco liberado puede convertirse en amonio por efecto de un bajo pH y a través de la enzima L–glutamato deshidrogenasa puede incorporarse a la célula microbiana como sillares de aminoácidos (Metges y Loh, 2003). Los metabolitos de la actividad microbiana se quedan en el alimento, entre ellos vitaminas, aminoácidos, AGV, enzimas y otros, los cuales pueden contribuir a mejorar el comportamiento de los animales.

En los procesos de FES, la eficiencia de conversión del NNP de la urea a proteína microbiana, depende de los sustratos empleados. Al respecto, Ramos *et al.* (2006), incluyeron diferentes fuentes de cereales en la FES de la caña de azúcar con el objetivo de disminuir la fibra del producto final e incrementar la síntesis de proteína microbiana; el contenido de proteína bruta (PB), proteína verdadera (PV), FDN y FDA del Sacchapulido, Sacchasorgo, Sacchamaíz y Sacchacítrico fue de: 19.7, 18.9, 18.1 y 19.1 % de PB, 13.3, 12.8, 12.7 y 10.6 % de PV, 47.7, 47.4, 46.5 y 46.3 % de FDN y 21.5, 19.4, 17.8 y 25.8 % de FDA, respectivamente.

Ramos *et al.* (2007), estudiaron el efecto de estos nuevos alimentos (Sacchapulido, Sachasorgo, Sachamaíz y Sacchacítrico) sobre la degradación *in situ* del forraje y los patrones de fermentación ruminal. La suplementación a los animales con estos alimentos, incrementó la digestibilidad de la materia seca del forraje y en todos los horarios estudiados (0, 2, 4, 6, 12 y 24 h), el pH se mantuvo por arriba de 6 y según Elías (1983), Pineda (2004), Galindo *et al.* (2005), Cobos *et al.* (2005) y Calsamiglia *et al.* (2008), arriba de este nivel, no se afecta la celulolisis ruminal. Por otro lado, la concentración de N–NH₃ a las 2 horas después de la suplementación fue mayor a los 8 mg dL⁻¹ considerado por Henderickx (1976) y Ruiz y Ayala (1987) como nivel óptimo para maximizar la síntesis de proteína microbiana, lo anterior, pudiera atribuirse a que la producción de NH₃ producto del N soluble o degradable, transcurre a mayor velocidad que su utilización ya que ellos utilizaron 2 % de urea en el proceso de FES. Después de

las 4 horas de la suplementación, los niveles de N-NH₃ disminuyeron, lo cual pudiera deberse a que parte es utilizado por los microorganismos ruminales para incorporarlos a sus células para la síntesis de aminoácidos (Baumann *et al.* 2004) además, de la posible absorción en las paredes celulares del rumen y transformación en urea en el hígado con pérdida de energía ya que según Lehninger (1991) se requieren tres ATP por mol de urea formado.

La concentración de N-NH₃ en el producto fermentado esta altamente correlacionado con la dosis de urea. Al respecto, Lezcano y Elías (1992), estudiaron la inclusión de diferentes niveles de urea (0, 0.5, 1.0 y 1.5 %) en la FES de la caña de azúcar y encontraron que ha medida que se incrementó el nivel de urea, la concentración de N-NH₃ se incrementó. Así mismo, Elías y Lezcano (2000), al estudiar las distintas proporciones de nitrógeno aportado por la urea y del suministro por harina de soya desgrasada y sin desgrasar, observaron también que, al incrementar el nitrógeno que aportó la urea, aumentó la concentración de N-NH₃. Resultado similares fueron obtenidos por Carrasco *et al.* (1998a y b) y Morgan (2003) en otros productos obtenidos por FES.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización geográfica del área de estudio

La fase de campo se realizó en el centro experimental del Colegio de Postgraduados, ubicado en el km 21 de la carretera federal Cárdenas– Coatzacoalcos, en H. Cárdenas, Tabasco, durante los meses de julio a octubre del 2007. El sitio se localiza a los 18° 00` latitud norte y 93° 30` longitud oeste, y a una altitud de 9 m.s.n.m. El clima de la región es tropical húmedo, con temperatura media anual de 26.2 °C, con oscilaciones térmica diarias de 25 a 50 °C en primavera y verano y de 16 a 20 °C en las noches de invierno (García, 1988). La precipitación media anual es de 2,240 mL, con 70 % del total en verano y otoño. La humedad relativa media mensual es superior al 80 %.

Los análisis bromatológicos y de amoniaco se realizaron en el laboratorio de Ciencia Animal del Campus Tabasco del Colegio de Postgraduados y en el laboratorio de Nutrición Animal, del programa de Ganadería del Campus Montecillo se determinaron los ácidos grasos volátiles.

5.2. Manejo de los Animales

Se utilizaron cinco bovinos cruzados (*Bos tauros* x *Bos indicus*), castrados y canulados en rumen, con un peso vivo promedio de 490.6±150.8 kg, alojados en corrales individuales, con agua y sales minerales a voluntad. Al inicio del experimento, se les aplicó una dosis de vitaminas A, D, E, (Vigantol®, Bayer S. A.) y se desparasitaban externamente con Taktic (Hoechst Roussel Vet®) cada periodo para controlar la incidencia de garrapatas.

En cada período experimental, los animales tenían 10 días de adaptación al suplemento y 4 días de muestreo (incubación de bolsas *in situ* y colecta de líquido ruminal). Al final de cada periodo, los animales se cambiaban de tratamientos de acuerdo al diseño estadístico del experimento.

Se les ofreció el forraje Elefante (*Penisetum purpureum* Schumacher) picados en molino tipo *chetumal*, a las 8:00 y 14:00 h, a voluntad, teniendo el cuidado que siempre dejaran el 20 % de lo ofrecido. El suplemento elaborado con base de caña (*Sacchapulido*) se les ofreció en húmedo a las 8:00 h a razón de 6 g kg⁻¹ del PV en base seco.

5.3. Elaboración de los alimentos (*Sacchapulido*)

Se utilizó tallo de caña de azúcar limpia (sin hojas, sin pajas y sin cogollo), se molió en una picadora de forraje a las 24 h de cortada y se mezcló con los ingredientes según tratamientos (Cuadro 1). Una vez mezclados los alimentos, se extendieron en una superficie de concreto, libre de los rayos solares, con un espesor de aproximadamente 10 cm y se dejó fermentar durante 24 h. Después de la fermentación, se tomó suficiente muestra de cada tratamiento para todos los estudios de digestibilidad *in situ* siguiendo el método de las diagonales y fueron conservados bajo congelamiento. El resto del alimento, se pesó y almacenó en bolsas de polietileno para ser utilizadas en la alimentación de los animales según los tratamientos. Los alimentos fueron elaborados cada 7 días.

Cuadro 1. Ingredientes (base fresca) usados para elaborar el Sacchapulido con los diferentes niveles de urea

| Ingredientes, % | Nivel de urea | | | |
|--|---------------|-------------|-------------|-------------|
| | 0.5 % | 1.0 % | 1.5 % | 2.0 % |
| Caña de azúcar | 74.70 | 74.20 | 73.70 | 73.20 |
| Pasta de soya | 4.00 | 4.00 | 4.00 | 4.00 |
| Pulido de arroz | 20.00 | 20.00 | 20.00 | 20.00 |
| Urea, CO(NH₂)₂ | 0.50 | 1.00 | 1.50 | 2.00 |
| Sulfato de amonio, (NH ₄) ₂ SO ₄ | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 |
| Minerales | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 |

5.4. Tratamientos (T) evaluados

T1: Solo forraje Elefante (*Penisetum purpureum* Schumacher) fresco

T2: T1 + Sacchapulido con 0.5 % de urea

T3: T1 + Sacchapulido con 1.0 % de urea

T4: T1 + Sacchapulido con 1.5 % de urea

T5: T1 + Sacchapulido con 2.0 % de urea

5.5. Determinación del consumo de MS del forraje, del suplemento y total

Para determinar el consumo de MS del forraje, se midió la diferencia de lo ofrecido menos el rechazo, durante 4 días consecutivos. Posteriormente, los datos fueron

transformados a porcentaje del peso vivo y se determinó el índice de consumo de MS.

5.6. Indicadores bromatológicos del forraje y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea

En cada periodo de muestreo, se tomó muestras del forraje ofrecido y de los suplementos durante los 4 días, estos fueron secadas en una estufa de aire forzado a 62°C durante 48 h y se picó en un molino Thomas–Willey™ (model 4 *Laboratory Mill*), con criba de 2 mm. Posteriormente, se hicieron muestras compuestas del forraje y de los suplementos por periodos.

Los análisis bromatológicos se realizaron por duplicado:

- Materia Seca (AOAC, 1995)
- Materia Orgánica (AOAC, 1995)
- Cenizas (AOAC, 1995)
- Nitrógeno Total (AOAC, 1995)
- Nitrógeno No Proteínico (Hayward, 1975)
- Proteína Verdadera [PV= PB – (NNP*6.25)]
- Fraccionamiento de la fibra, FDN y FDA (Van Soest *et al.*, 1991)

Para la determinación del nitrógeno no proteínico (NNP), primeramente, se procedió a someter 2 g de muestra a la acción del ácido tricloroacético al 25 %, bajo refrigeración; la acción de éste ácido, provocó que las proteínas se precipitaran y se tomó una alícuota del sobrenadante, se centrifugó a 5000 rpm por espacio de 10 minutos, seguidamente se tomaron del sobrenadante 3 mL, y de inmediato se aplicó el procedimiento micro–Kjeldhal para determinar nitrógeno (AOAC, 1995).

Para la determinación de la fracción fibrosa (FDN y FDA), se confeccionaron por duplicado, bolsitas de tela nylon (5 x 10 cm, porosidad 45 µm), fueron pesadas y se agregó 0.6 g de muestra, posteriormente, fueron selladas con un termo–sellador (*Impulse Sealer*™, Model AIE–300 AC–120V), y se sometieron a la acción del detergente neutro y detergente ácido (Van Soest *et al.*, 1991).

5.7. Indicadores fermentativos del líquido ruminal

Para conocer estas variables, el líquido ruminal se colectó en el saco ventral a las 0, 2, 4, 6, 12 y 24 h después de suministrar el suplemento correspondiente, según el tratamiento, durante 4 días consecutivos y se midió el pH de inmediato con un potenciómetro digital

(marca *DENVER INSTRUMENT*TM pH/mV modelo UB-10). Posteriormente, 4 mL del líquido ruminal fueron acidificados con 1 mL de ácido metafosfórico al 25 % y se almacenaron, a 4°C, para análisis posteriores de ácidos grasos volátiles, según Erwin *et al.* (1961) y amoníaco, según McCullough (1967).

5.8. Determinación de la digestibilidad *in situ* del forraje y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea

Para determinar la DIMS del forraje y de los suplementos, en cada período de recolección del líquido ruminal, se incubaron en rumen por duplicado, bolsitas de tela nylon (10 x 20 cm, porosidad 45 μ m) siguiendo la técnica descrita por Ørskov *et al.* (1980), conteniendo 7 g de muestra secadas a 62 °C en una estufa de aire forzado y molidos en un molino *Thomas-Willey*TM (model 4 *Laboratory Mill*) con criba de 2 mm, las cuales fueron incubadas a las 0, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72 y 96 h, después de la suplementación.

Todas las bolsas fueron incubadas al mismo tiempo y se fueron retirando del rumen de acuerdo a los horarios estudiados, se procedió así para poder hacer coincidir los tiempos de recolección del líquido ruminal con la incubación. Las bolsas post incubación se lavaron bajo mismo criterio (fueron lavadas con agua corriente en cubetas de 20 L, cambiando el agua hasta que en el último enjuague se percibió clara). Posteriormente fueron secadas en una estufa de aire forzado a 62 °C durante 48 h y se pesó, y por diferencia de peso, se calculó la DIMS.

Después de la incubación, con las muestras residuales de los pastos y suplementos, se hicieron muestras compuestas, juntando los residuales de las bolsas del mismo tratamiento y horario de muestreo de los cinco periodos, para obtener una muestra de cada tratamiento con su respectivo horario de muestreo. A estos residuales, se les determinó cenizas, PB, FDN, FDA y se calculó la digestibilidad de la materia orgánica (MO), PB, FDN y FDA. Con respecto a los análisis estadísticos de estas muestras compuestas, se analizó como un diseño completamente aleatorizado.

5.9. Determinación de los efectos del Sacchapulido con diferentes niveles de urea sobre la digestibilidad *in situ* del forraje

Para conocer el efecto de los suplementos a base de caña sobre la digestibilidad *in situ* del forraje, a los animales suplementados con el Sacchapulido con los diferentes niveles

de urea, además de la incubación del alimento, se les incubó también, al mismo tiempo, bolsas de tela nylon por duplicado con muestras del forraje y a los residuales también se les determinó cenizas, PB, FDN, FDA para calcular el efecto de los suplementos en la digestibilidad de MO, PB, FDN y FDA del forraje.

5.10. Diseño experimental y análisis estadísticos

En este experimento, se utilizó un diseño estadístico Cuadrado Latino 5 x 5, es decir, cinco animales distribuidos en cinco tratamientos durante cinco periodos, se realizó un ANOVA para encontrar diferencias entre los resultados obtenidos utilizando la prueba Tukey (1953) con $\alpha=0.05$, mediante PROC GLM del estadístico SAS, versión 9.1 para *Windows* (SAS, 2003), con el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + P_j + A_k + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Variable de respuesta;

μ = Media general;

F_i = Efecto de la i -ésima hilera (Tratamientos 1 – 5);

P_j = Efecto de la j -ésima columna (Periodos 1 – 5);

A_k = Efecto del k -ésimo animal (1 – 5);

ε_{ijk} = Error experimental.

Para comparar las diferencias estadísticas (excepto para proteína bruta, el cual se analizó únicamente con el modelo anterior) entre las trayectorias de digestibilidad, las medias de los horarios para cada tratamiento fueron agrupadas, se consideraron como factores los tratamientos y el tiempo de incubación, se realizó un ANOVA para encontrar las diferencias utilizando la prueba Tukey (1953) con $\alpha=0.05$, mediante PROC GLM del estadístico SAS, versión 9.1 para *Windows* (SAS, 2003), con el siguiente modelo lineal general, marginando los tiempos de incubación:

$$Y_{ij} = \mu + \beta_i + \gamma_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable de respuesta;

μ = Media general;

β_i = Tratamiento;

γ_j = Tiempo de incubación;

ε_{ij} = Error experimental.

5.11. Obtención de los ajuste de los parámetros utilizados para la evaluación de los tratamientos

Para obtener el valor de los parámetros correspondientes a cada tratamiento y de esta manera evaluar el comportamiento de la degradación dentro del rumen por efecto de los tratamientos, se desarrolló un modelo dinámico, mecanístico y determinístico. El modelo desarrollado consistió en un sistema de dos ecuaciones diferenciales que describen la degradación de los sustratos en el rumen por las bacterias en función del material potencialmente degradable (PD) y no degradable (ND). El sistema de ecuaciones diferenciales con sus ecuaciones auxiliares se describe a continuación:

Ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dPD}{dt} = -Degradacion$$

$$\frac{dD}{dt} = Degradacion$$

Ecuaciones auxiliares:

$$Degradación = kPD$$

$$R = PD + ND$$

Donde:

D: Sustrato degradado;

PD: Sustrato potencialmente degradable;

ND: Sustrato no degradable;

t : Tiempo de incubación;

k : Tasa de degradación;

R: Residual.

El modelo se ajustó a los datos de residuales (R) obtenidos experimentalmente para cada tratamiento. Para el ajuste de parámetros se utilizó el programa Berkeley Madonna versión 8.0.1 para *Windows* (Macey *et al.*, 2000) desarrollado en la Universidad de California, Campus Berkeley, y se obtuvo los valores de los parámetros: Tasa de degradación (k), Sustrato potencialmente degradable (PD) y Sustrato no degradable (ND).

5.12. Determinación de la degradación efectiva ruminal del forraje Elefante y los suplementos

Para determinar la degradación efectiva ruminal (DER) del forraje y de los suplementos se utilizó el modelo de Kristensen *et al.* (1982), usando diferentes tasas de pasaje ruminal ($k= 0.03, 0.044$ y $0.05 \% h^{-1}$):

$$DER= F_0 + \sum_{i=0}^n [MSD_{t_{i+1}} - MSD_{t_i}] * e^{-kt} i + e^{-kt} i+1/2$$

Donde:

DER= Degradación efectiva ruminal;

F₀= Fracción soluble, determinado por el lavado;

k= tasa de pasaje ruminal (% h⁻¹);

t= tiempo de incubación (h);

MSDt = materia seca degradada (incluyendo la fracción soluble) a tiempo t;

i= es el número de incubaciones.

5.13. Determinación de los efectos de los suplementos sobre la degradación efectiva ruminal del forraje Elefante

Para conocer el efecto de los suplementos a base de caña sobre la degradación efectiva del forraje, los datos obtenidos en el punto 5.9 de materiales y métodos, fueron analizados con el mismo modelo de Kristensen *et al.* (1982), utilizado en el punto 5.12 de materiales y métodos, usando diferentes tasas de recambio ruminal ($k= 0.03, 0.044$ y 0.05).

VI. RESULTADOS

6.1. Composición bromatológica del forraje Elefante y del Sacchapulido (SP) con diferentes niveles de urea (U)

El SP, independiente del nivel de U, tuvo mayores concentraciones de MS, PB y CC con respecto al forraje Elefante, y menores concentraciones para los indicadores de la fracción fibrosa (FDN y FDA). Entre los SP, el suplemento con 0.5 % de U tuvo el mayor contenido de MS y FDN, por el contrario el SP con 2 % de U tuvo los valores inferiores para estos indicadores y mayor concentración de PB y CC (Cuadro 2).

Cuadro 2. Composición bromatológica del forraje Elefante y del Sacchapulido (SP) con diferentes niveles de urea (U)

| Factor, % | Tratamientos | | | | |
|--------------|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | Forraje Elefante | SP con 0.5 % U | SP con 1.0 % U | SP con 1.5 % U | SP con 2.0 % U |
| MS | 20.34 ± 1.7 | 44.65 ± 1.1 | 43.39 ± 1.4 | 42.88 ± 0.3 | 41.78 ± 0.7 |
| Cenizas | 10.25 ± 0.9 | 8.18 ± 1.5 | 9.19 ± 3.1 | 8.65 ± 1.8 | 8.79 ± 1.8 |
| MO | 89.75 ± 0.9 | 91.82 ± 1.5 | 90.81 ± 3.1 | 91.35 ± 1.8 | 91.21 ± 1.8 |
| PB | 11.37 ± 1.9 | 22.75 ± 0.9 | 25.88 ± 1.3 | 28.18 ± 0.8 | 29.14 ± 1.9 |
| NNP*6.25 | – | 8.93 ± 1.4 | 10.20 ± 1.3 | 11.31 ± 0.9 | 13.24 ± 0.3 |
| PV | – | 13.82 ± 0.9 | 15.68 ± 0.6 | 16.87 ± 0.9 | 15.90 ± 1.7 |
| CC | 33.45 ± 2.3 | 66.88 ± 4.3 | 67.57 ± 4.9 | 70.29 ± 5.7 | 70.46 ± 4.3 |
| FDN | 66.55 ± 2.3 | 33.12 ± 4.3 | 32.43 ± 4.9 | 29.71 ± 5.7 | 29.54 ± 4.3 |
| FDA | 51.01 ± 4.7 | 18.04 ± 3.7 | 20.05 ± 5.8 | 15.95 ± 4.7 | 15.30 ± 3.7 |
| Hemicelulosa | 15.54 ± 5.7 | 15.09 ± 2.6 | 12.38 ± 2.3 | 13.76 ± 1.2 | 14.24 ± 2.4 |

MS: Materia seca, MO: Materia orgánica, PB: Proteína bruta, NNP: Nitrógeno no proteico, PV: Proteína verdadera, CC: Contenido celular, FDN: Fibra detergente neutro, FDA: Fibra detergente ácido.

6.2. Índice de consumo del forraje, del suplemento y total

Con relación a los índices de consumo expresado como porcentaje del peso vivo en base seca, los animales suplementados tuvieron índices de consumo de forraje similares a los animales sin suplementación. El suplemento incrementó ($P < 0.01$) el índice de consumo total, a excepción de los animales suplementados con el SP con 0.5% de U, los cuales tuvieron índices de consumo similar a los animales sin suplementación (Cuadro 3).

Cuadro 3. Índices de consumo (% del peso vivo en base seca) del forraje Elefante, suplemento y total en animales fistulados en rumen suplementados con Sacchapulido con diferentes niveles de urea

| Índice de consumo, | Solo Forraje | Forraje Elefante más | | | | EE± |
|------------------------|--------------------|----------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------|
| | | SP 0.5 % U | SP 1.0 % U | SP 1.5 % U | SP 2.0 % U | |
| Consumo de forraje | 2.03 ^{ab} | 1.87 ^b | 2.02 ^{ab} | 2.09 ^a | 2.02 ^{ab} | 0.05* |
| Consumo del suplemento | 0 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | |
| Consumo total | 2.03 ^b | 2.47 ^{ab} | 2.62 ^a | 2.69 ^a | 2.62 ^a | 0.05** |

SP: Sacchapulido, U: Urea.

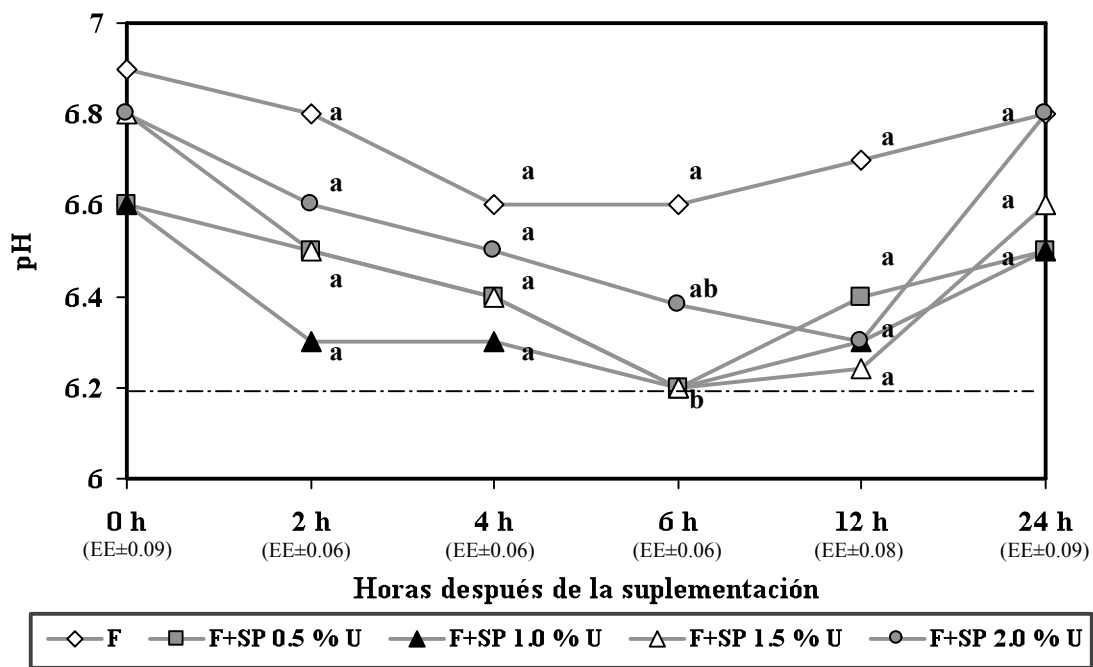
^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma fila indican diferencias (Tukey, *P<0.05, **P<0.01).

6.3. Efecto de los niveles de U en el SP sobre los patrones de fermentación ruminal

Con respecto al pH ruminal (Figura 5, Anexo 1), a las 0 h no hubo diferencias entre los tratamientos evaluados. A las 2 h después de la suplementación, el pH fue bajo en todos los tratamientos evaluados, sin diferencias entre estos. A las 4 h no hubo diferencias; sin embargo, a las 6 h hubo diferencias (P<0.05), los animales que consumieron solo forraje mostraron los mayores valores de pH con respecto a los suplementados con el SP, a excepción del SP con 2 % de U, que fue similar. A las 12 h y 24 h no hubo diferencias (P<0.05) entre los tratamientos estudiados. Es importante destacar que en todos los tratamientos y horarios evaluados, el pH ruminal fue mayor a 6.2.

En la Figura 6 y en el Anexo 2 se presentan los resultados relacionados con la concentración de N-NH₃ en rumen, con los tratamientos evaluados. A las 0 h, la concentración de nitrógeno amoniacal fue similar (P>0.05) entre tratamientos; sin embargo, 2 h después de la suplementación se presentó la mayor concentración (P<0.001) en los tratamientos estudiados, y particularmente la mayor (P<0.05) concentración de N-NH₃ se encontró en animales que recibieron SP con 1.5 y 2.0 % de U, seguidos de los tratamiento SP con 0.5 y 1.0 % de U, y el grupo de animales que presentó el menor (P<0.05) valor fue el que recibió solo forraje. Las concentraciones de N-NH₃ observadas a las 4 h en los tratamientos evaluados fueron menores con relación a los valores registrados a las 2 h, y las mayores concentraciones (P<0.001) se

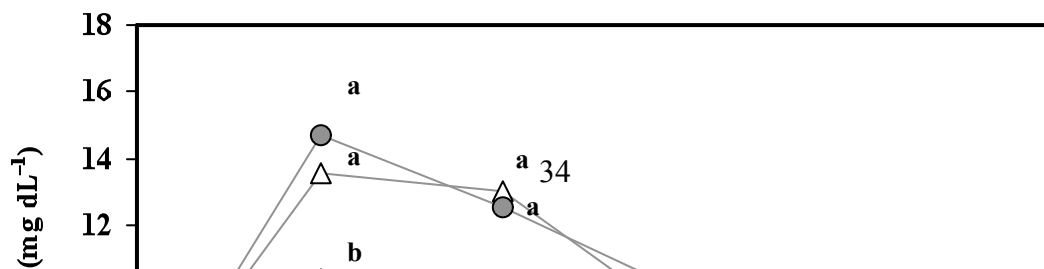
presentaron en los animales suplementados con SP al 1.5 y 2.0 % de U, los valores intermedios ($P < 0.05$) fueron con SP al 0.5 y 1.0 % de U, pero el valor del primero, fue similar ($P > 0.05$) al tratamiento que incluyó solamente forraje. A las 6 h las concentraciones de $N-NH_3$ continuaron disminuyendo con relación a las observadas a las 4 h, presentándose diferencias altamente significativas entre los tratamientos; los mayores valores ($P < 0.01$) se encontraron en los animales suplementados con SP al 1.5 y 2.0 % de U, el SP al 0.5 y 1.0 % de U tuvieron valores intermedios ($P < 0.05$) y los animales que consumieron solo forraje tuvieron el menor valor ($P < 0.05$). A las 12 h, la mayor concentración ($P < 0.001$) de $N-NH_3$ se encontró en animales suplementados con SP al 1.5 y 2.0 % de U, y las menores ($P < 0.05$) en los tratamientos con SP al 0.5 y 1.0 % de U y en los animales sin suplemento. A las 24 h la concentración de $N-NH_3$ fue similar entre los tratamientos evaluados.



F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Medias con distinta literal en el mismo horario indican diferencias (Tukey, $P < 0.05$).

Figura 5. Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre el pH ruminal



F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Medias con distinta literal en el mismo horario indican diferencias (Tukey, $P < 0.05$).

Figura 6. Efecto de niveles de urea en el Sacchapulido sobre la concentración de N-NH₃ ruminal

Con respecto a la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV), expresada en porcentaje del total (Cuadro 4), a las 0 h no hubo diferencias ($P > 0.05$) para acético (ACH), propiónico (PRH) y butírico (BTH) entre los tratamientos estudiados. Dos horas después de la suplementación, la mayor ($P < 0.001$) concentración de ACH se encontró en los animales que consumieron solo forraje con respecto a los suplementados con el SP con 1.5 % de U; sin embargo, este último tratamiento se comportó de manera similar a los tratamientos que implicaron SP al 0.5, 1.0 y 2 % de U, siendo los valores de estos últimos similares al de los animales consumiendo solo forraje. No se encontró diferencia entre los valores del PRH, pero si con respecto al BTH, donde el mayor valor ($P < 0.05$) se registró en animales suplementados con SP al 1.5 % de U.

A las 4 h los animales alimentados solo con forraje y los suplementados con SP al 1.5 % de U tuvieron el mayor valor de ACH y el valor de este último fue similar al de los animales suplementados con SP al 0.5, 1.0 y 2.0 % de U, los cuales difieren a los valores de los animales consumiendo solo forraje. Con relación al PRH no hubo diferencia entre los tratamientos en este horario, pero si con relación al BTH ($P < 0.01$) el cual presentó la misma tendencia encontrada a las 2 h en todos los tratamientos. A las 6 y 12 h no hubo diferencias en la concentración de ACH, PRH y BTH en los tratamientos estudiados.

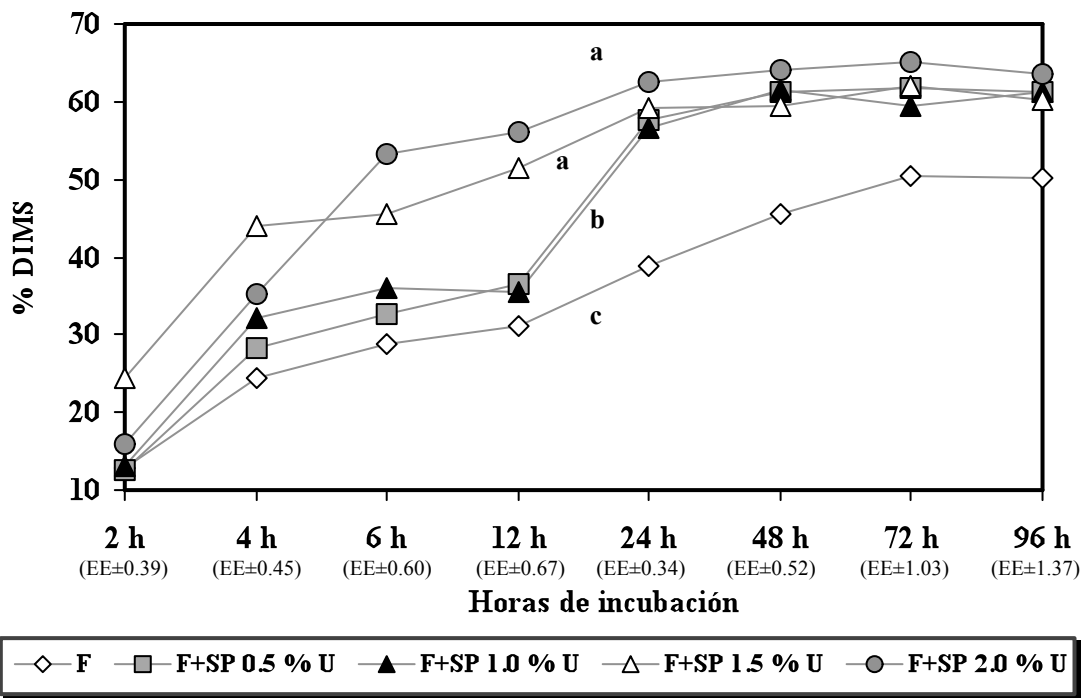
Cuadro 4. Efecto de niveles de urea (U) en el Sacchapulido (SP) en el porcentaje de ácidos grasos volátiles en el rumen

| Tratamientos | Acético | Propiónico | Butírico |
|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| hora 0 | | | |
| Forraje Elefante | 70.98 ^a | 18.36 ^a | 10.66 ^a |
| F + SP con 0.5 % U | 70.29 ^a | 17.86 ^a | 11.84 ^a |
| F + SP con 1.0 % U | 68.82 ^a | 17.34 ^a | 13.84 ^a |
| F + SP con 1.5 % U | 69.97 ^a | 16.27 ^a | 13.76 ^a |
| F + SP con 2.0 % U | 68.57 ^a | 18.83 ^a | 12.60 ^a |
| EE± | 0.65NS | 0.61NS | 0.42* |
| 2 horas | | | |
| Forraje Elefante | 70.16 ^a | 18.22 ^a | 11.62 ^b |
| F + SP con 0.5 % U | 65.47 ^{ab} | 20.53 ^a | 13.99 ^{ab} |
| F + SP con 1.0 % U | 67.12 ^{ab} | 18.16 ^a | 15.72 ^{ab} |
| F + SP con 1.5 % U | 63.88 ^b | 19.87 ^a | 17.25 ^a |
| F + SP con 2.0 % U | 64.75 ^{ab} | 20.52 ^a | 14.72 ^{ab} |
| EE± | 0.76* | 0.58NS | 0.63* |
| 4 horas | | | |
| Forraje Elefante | 69.25 ^a | 18.03 ^a | 12.72 ^b |
| F + SP con 0.5 % U | 63.17 ^b | 21.07 ^a | 15.76 ^{ab} |
| F + SP con 1.0 % U | 65.19 ^{ab} | 18.27 ^a | 17.54 ^{ab} |
| F + SP con 1.5 % U | 62.64 ^b | 18.67 ^a | 18.69 ^a |
| F + SP con 2.0 % U | 62.95 ^b | 19.32 ^a | 17.73 ^{ab} |
| EE± | 0.78* | 0.53NS | 0.67** |
| 6 horas | | | |
| Forraje Elefante | 65.40 ^a | 21.17 ^a | 13.44 ^a |
| F + SP con 0.5 % U | 65.12 ^a | 20.46 ^a | 14.42 ^a |
| F + SP con 1.0 % U | 65.84 ^a | 19.92 ^a | 16.25 ^a |
| F + SP con 1.5 % U | 64.06 ^a | 18.91 ^a | 17.03 ^a |
| F + SP con 2.0 % U | 63.47 ^a | 19.48 ^a | 17.05 ^a |
| EE± | 0.85NS | 0.62NS | 0.63NS |
| 12 horas | | | |
| Forraje Elefante | 68.23 ^a | 19.37 ^a | 12.40 ^a |
| F + SP con 0.5 % U | 67.32 ^a | 19.66 ^a | 13.01 ^a |
| F + SP con 1.0 % U | 65.45 ^a | 18.70 ^a | 15.85 ^a |
| F + SP con 1.5 % U | 64.43 ^a | 19.93 ^a | 15.64 ^a |
| F + SP con 2.0 % U | 64.82 ^a | 21.03 ^a | 14.14 ^a |
| EE± | 0.81NS | 0.45NS | 0.54NS |

F: Forraje Elefante, ^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma columna indican diferencias (Tukey, P<0.05); *P<0.05, **P<0.01, NS: No Significativo.

6.4. Digestibilidad *in situ* del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea

Con relación a la digestibilidad *in situ* de la materia seca (DIMS), el forraje tuvo los valores más bajos ($P<0.001$) con respecto al SP con los diferentes niveles de U. El tratamiento donde no hubo suplementación, presentó la DIMS más baja. Entre los SP el suplemento con 1.5 y 2 % de U presentaron la mayor ($P<0.001$) DIMS, sin diferencias entre ellos, seguidos del SP con 0.5 y 1.0 % de U sin diferencias entre ellos (Figura 7, Anexo 3).



F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

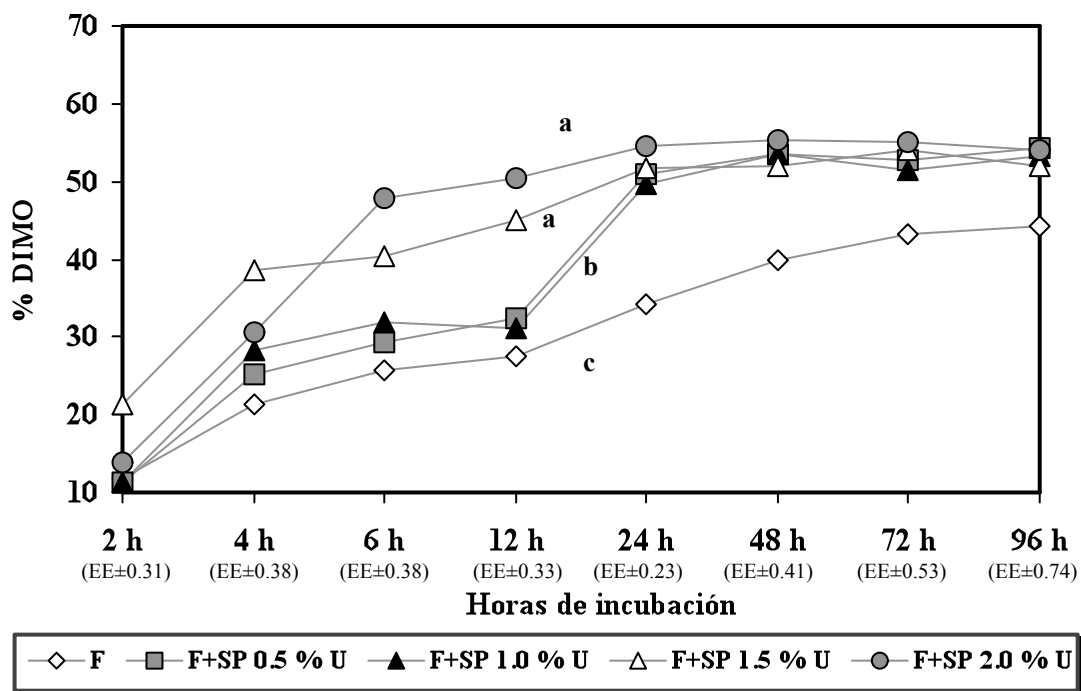
^{a, b}: Trayectorias de digestibilidad con distinta literal indican diferencias (Tukey, $P<0.05$).

Figura 7. Digestibilidad *in situ* de la materia seca del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea

Con respecto a la digestibilidad *in situ* de la materia orgánica (DIMO), el forraje tuvo los menores valores ($P<0.001$) con respecto al SP a diferentes niveles de U. La mayor ($P<0.001$) DIMO lo presentó el SP con 1.5 y 2 % de U, seguido del SP con 0.5 y 1.0 % de U sin diferencias entre ellos (Figura 8, Anexo 4).

Con relación a la digestibilidad *in situ* de la proteína bruta (DIPB), en los horarios estudiados, se observó que el forraje presentó los valores más bajos ($P<0.001$) con respecto al SP con los diferentes niveles de U. A las 2, 4 y 6 h, el SP con 2 % de U tuvo la más alta ($P<0.001$) DIPB, 45.58, 43.34 y 49.57 %, respectivamente. A las 12 h, los

mayores valores ($P < 0.001$) se observaron con el SP al 2.0 y 0.5 % de U; sin embargo, este último, fue similar ($P < 0.05$) con el SP al 1.5 % de U y este a su vez, fue similar ($P < 0.05$) con el SP al 1.0 % de U. A las 24, 48, 72 y 96 h, el SP con 2 % de U tuvo los mayores valores, 53.55, 53.22, 60.68 y 55.22 % de DIPB, respectivamente (Cuadro 5).



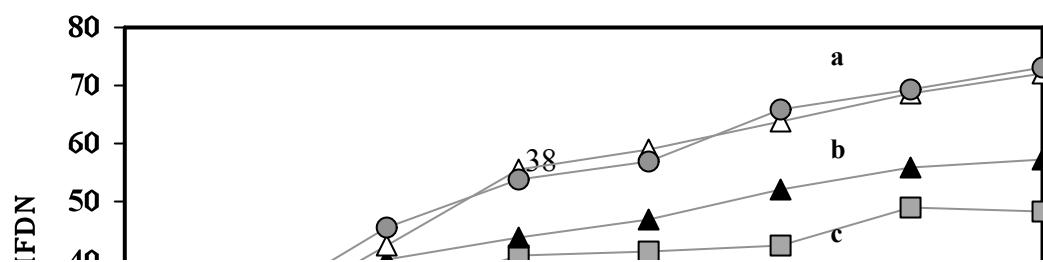
F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

a, b: Trayectorias de digestibilidad con distinta literal indican diferencias (Tukey, $P < 0.05$).

Figura 8. Digestibilidad *in situ* de la materia orgánica del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea

En relación a la digestibilidad *in situ* de la FDN (DIFDN), fue menor en el forraje con respecto a los suplementos evaluados. El SP con 1.5 y 2 % de U tuvieron los mayores ($P < 0.001$) valores de DIFDN seguidos del SP con 1.0 % de U; el menor valor se encontró con el SP con 0.5 % de U (Figura 9, Anexo 5).

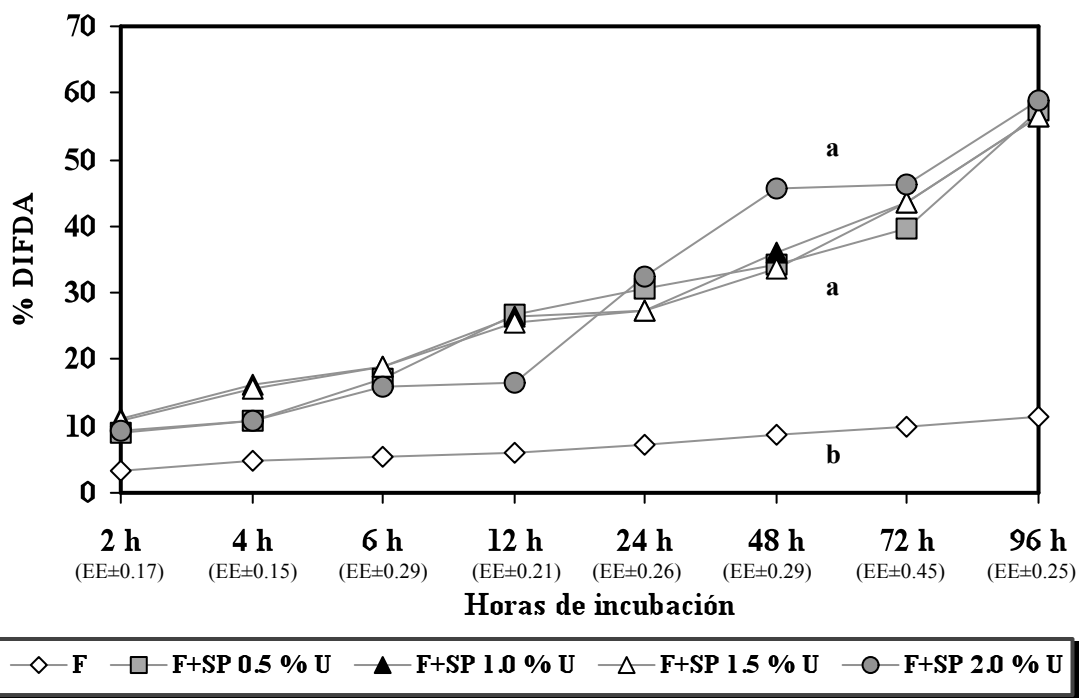
Con relación a la digestibilidad *in situ* de la FDA (DIFDA), el forraje tuvo los menores ($P < 0.05$) valores con respecto a los suplementos evaluados entre los cuales no hubo diferencias significativas (Figura 10, Anexo 6).



F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Trayectorias de digestibilidad con distinta literal indican diferencias (Tukey, P<0.05).

Figura 9. Digestibilidad *in situ* de la fibra detergente neutro del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea



F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Trayectorias de digestibilidad con distinta literal indican diferencias (Tukey, P<0.05).

Figura 10. Digestibilidad *in situ* de la fibra detergente ácido del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea

Cuadro 5. Digestibilidad *in situ* de la proteína bruta del forraje Elefante y del Sacchapulido con niveles de urea en los diferentes horarios

| Tratamientos | Horas de incubación | | | | | | | |
|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | 2 | 4 | 6 | 12 | 24 | 48 | 72 | 96 |
| Solo Forraje | 5.57 ^d | 3.31 ^d | 1.36 ^e | -1.19 ^d | -0.01 ^d | -2.54 ^d | 1.09 ^d | 0.55 ^d |
| F + SP con 0.5 % U | 25.71 ^c | 35.85 ^b | 39.57 ^b | 39.40 ^{ab} | 39.79 ^b | 44.51 ^b | 45.06 ^b | 40.79 ^b |
| F + SP con 1.0 % U | 21.70 ^c | 24.66 ^c | 23.13 ^d | 23.04 ^c | 29.54 ^c | 34.49 ^c | 37.71 ^c | 36.27 ^c |
| F + SP con 1.5 % U | 36.06 ^b | 34.22 ^b | 33.30 ^c | 30.38 ^{bc} | 41.46 ^b | 43.66 ^b | 46.64 ^b | 43.88 ^b |
| F + SP con 2.0 % U | 45.58 ^a | 43.34 ^a | 49.57 ^a | 48.16 ^a | 53.55 ^a | 53.22 ^a | 60.68 ^a | 55.22 ^a |
| EE± | 0.37*** | 0.24*** | 0.19*** | 0.46*** | 0.14*** | 0.21*** | 0.13*** | 0.19*** |

F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma columna indican diferencias (Tukey, $P < 0.05$), *** $P < 0.001$.

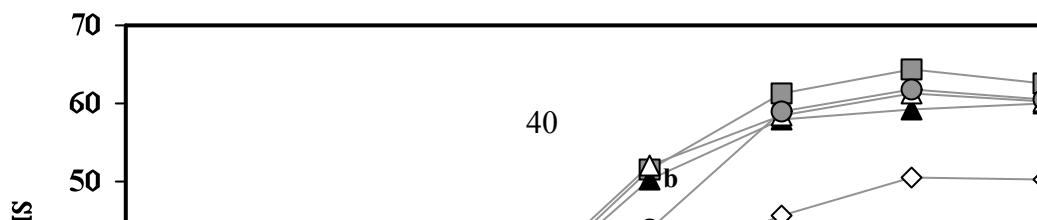
6.4.1. Efectos de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la digestibilidad *in situ* del forraje Elefante

Con relación al efecto del SP con los diferentes niveles de U sobre la DIMS del forraje, independientemente del nivel de urea, el SP incrementó la DIMS del forraje. Los mayores ($P < 0.001$) incrementos se obtuvieron cuando se suplementó SP con 1.5 y 2.0 % de U, sin diferencias entre ellos, seguidos del SP con 1.0 % de U; el menor incremento se obtuvo con el SP con 0.5 % de U (Figura 11, Anexo 7).

Con respecto al efecto del suplemento sobre la DIMO del forraje, independientemente del nivel de urea, el SP incrementó ($P < 0.05$) la DIMO del forraje. El mayor incremento se obtuvo cuando se suplementó con SP al 1.5 y 2 % de U, sin diferencias entre ellos, seguidos del SP con 0.5 y 1.0 % de U, sin diferencias entre estos (Figura 12, Anexo 8).

Con relación al efecto del suplemento sobre la DIFDN del forraje, el SP incrementó ($P < 0.05$) la DIFDN del forraje, independientemente del nivel de urea utilizado, el SP con 2 % de U presentó el mayor ($P < 0.05$) incremento en la DIFDN del forraje seguido del SP con 0.5, 1.0 y 1.5 % de U, sin diferencias entre ellos (Figura 13, Anexo 9).

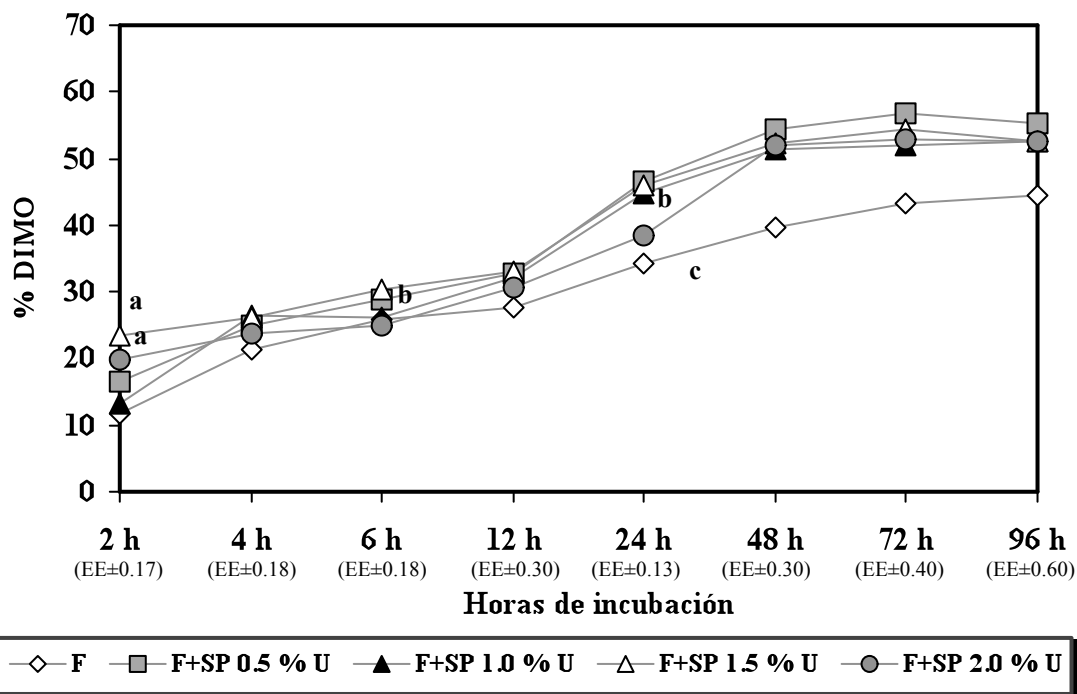
Con relación al efecto del suplemento sobre la DIFDA del forraje, el SP con 1.5 % de U, tuvo el mayor incremento ($P < 0.05$) en la DIFDA del forraje, seguido del SP con 0.5, 1.0 y 2 % de U, sin diferencias entre ellos (Figura 14, Anexo 10).



F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Trayectorias de digestibilidad con distinta literal indican diferencias (Tukey, P<0.05).

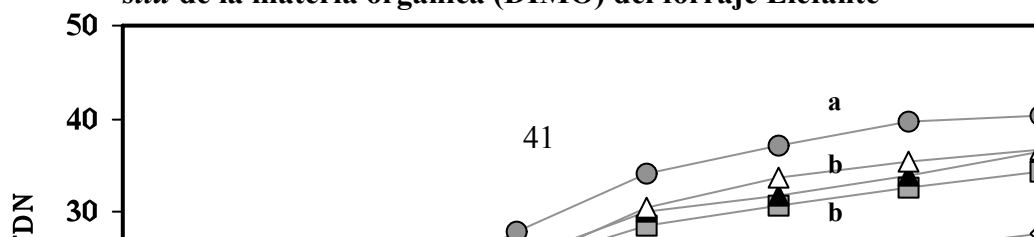
Figura 11. Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la digestibilidad *in situ* de la materia seca (DIMS) del forraje Elefante



F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Trayectorias de digestibilidad con distinta literal indican diferencias (Tukey, P<0.05).

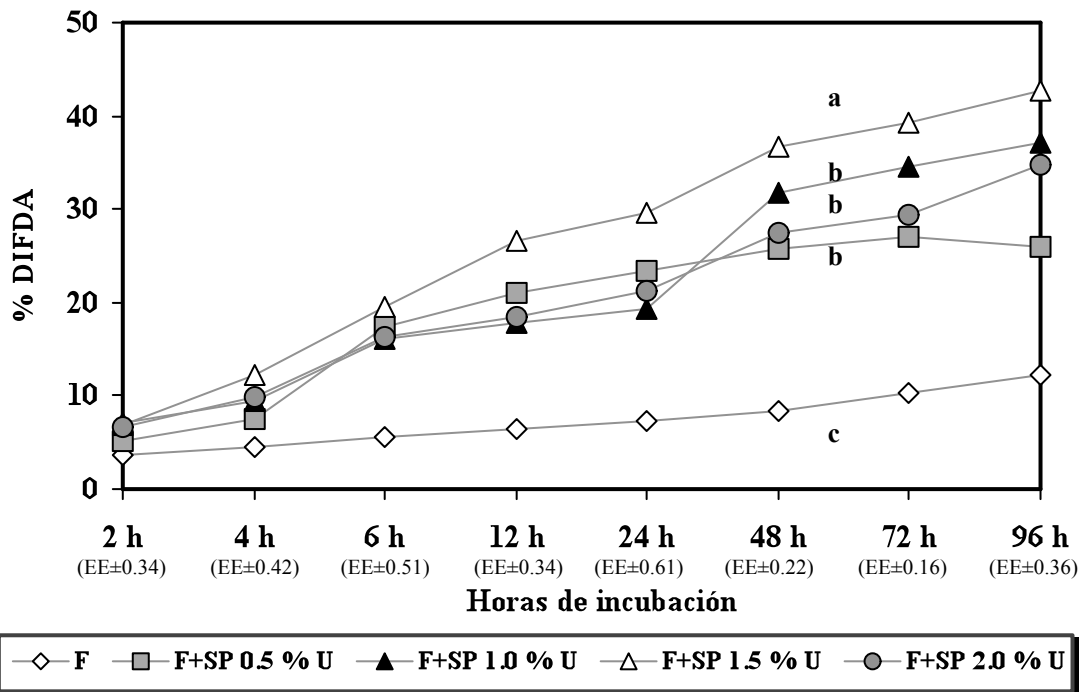
Figura 12. Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la digestibilidad *in situ* de la materia orgánica (DIMO) del forraje Elefante



F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Trayectorias de digestibilidad con distinta literal indican diferencias (Tukey, $P < 0.05$).

Figura 13. Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la digestibilidad *in situ* de la fibra detergente neutro (DIFDN) del forraje Elefante



F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

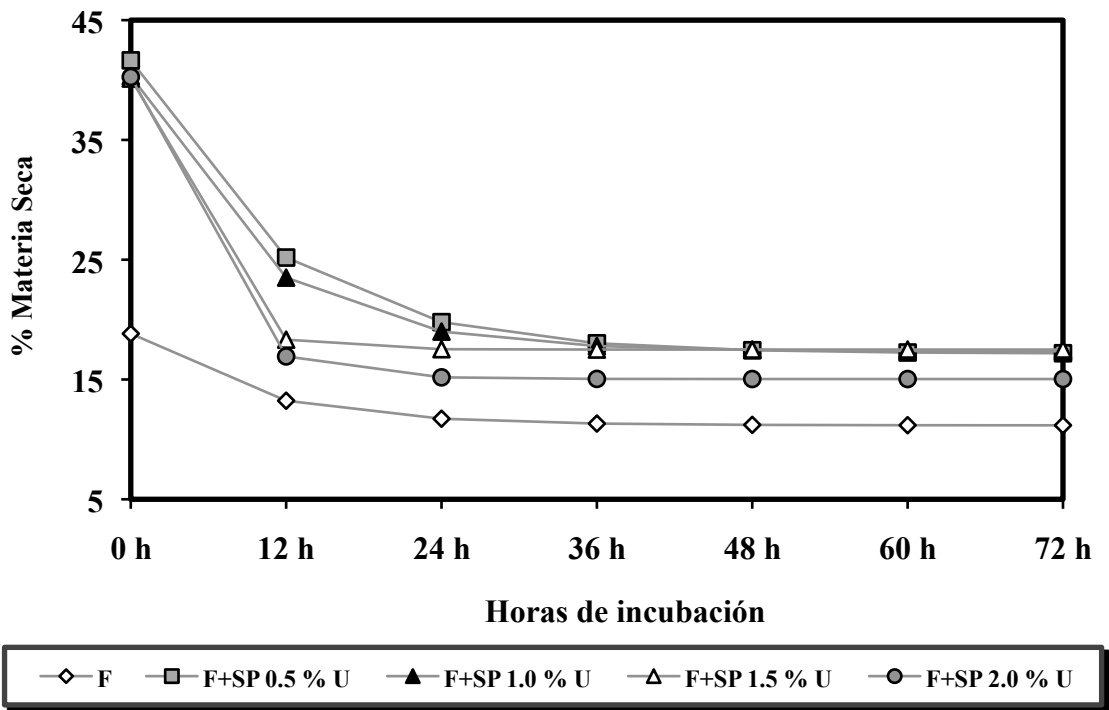
^{a, b}: Trayectorias de digestibilidad con distinta literal indican diferencias (Tukey, $P < 0.05$).

Figura 14. Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la digestibilidad *in situ* de la fibra detergente ácido (DIFDA) del forraje Elefante

6.5. Ajuste de los parámetros utilizados para la evaluación del forraje Elefante y los Suplementos

Con respecto al ajuste de los parámetros de la incubación, para cada tratamiento, se obtuvieron curvas de degradación y valores de tasa de degradación (k), sustrato potencialmente degradable (PD) y sustrato no degradable (ND), tomando en cuenta los residuales de la incubación, así se encontró que cuando se ajustó para la MS (Figura 15) del forraje y los suplementos, los SP tuvieron mayor residual de MS con respecto al solo forraje, pero el SP con 1.5 % de U tuvo mayor k , el SP con 2 % de U tuvo mayor PD, así mismo este último presentó el menor contenido de ND (Cuadro 6).

Cuando se ajustó para la FDN del forraje y los suplementos (Figura 16), el solo forraje tuvo mayor contenido de residual para este indicador, mientras que el SP con 1.5 y 2 % de U tuvieron menor residual de FDN, así mismo, el SP con 1.5 y 2 % de U tuvieron mayor PD y menor ND con respecto al solo forraje (Cuadro 7)



F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

Figura 15. Ajuste de la materia seca del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea, tomando en cuenta los residuales

Cuando se hizo el ajuste para la FDA del forraje y los suplementos (Figura 17), el solo forraje presentó la mayor cantidad de residual, mientras que el SP con 1.5 y 2 % de U

tuvieron los menores residuos de FDA, estos mismos presentaron mayor contenido de PD y menor cantidad de ND con respecto al solo forraje (Cuadro 8).

Cuadro 6. Parámetros obtenidos con el ajuste para la materia seca del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea

| Parámetros | Solo Forraje | Forraje Elefante más | | | |
|------------|--------------|----------------------|------------|------------|------------|
| | | SP 0.5 % U | SP 1.0 % U | SP 1.5 % U | SP 2.0 % U |
| <i>k</i> | 0.10 | 0.09 | 0.10 | 0.24 | 0.19 |
| PD | 7.65 | 24.48 | 22.97 | 22.62 | 25.22 |
| ND | 11.17 | 17.16 | 17.35 | 17.50 | 15.04 |
| EE± | 12.63 | 18.43 | 23.05 | 14.73 | 18.24 |

SP: Sacchapulido, U: Urea, *k*: Tasa de degradación ruminal (% h⁻¹), PD: Sustrato potencialmente degradable, ND: Sustrato no degradable, EE: Error estándar.

Cuadro 7. Parámetros obtenidos con el ajuste para la fibra detergente neutro del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea

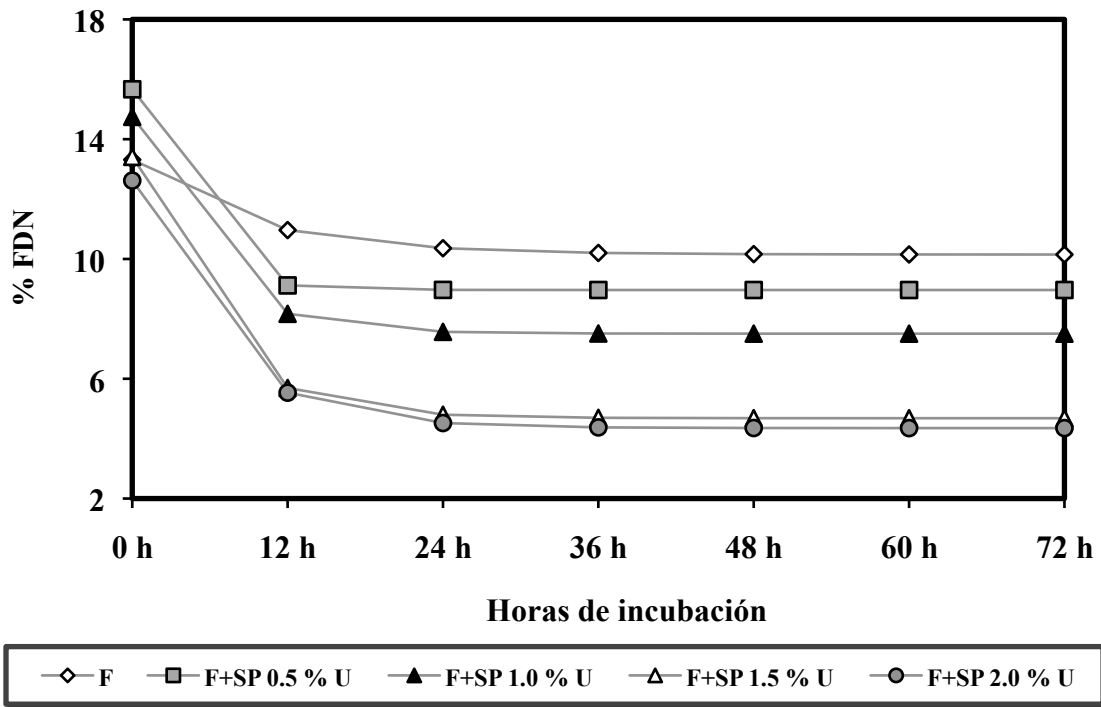
| Parámetros | Solo Forraje | Forraje Elefante más | | | |
|------------|--------------|----------------------|------------|------------|------------|
| | | SP 0.5 % U | SP 1.0 % U | SP 1.5 % U | SP 2.0 % U |
| <i>k</i> | 0.11 | 0.27 | 0.20 | 0.16 | 0.15 |
| PD | 3.17 | 6.70 | 7.91 | 8.73 | 8.27 |
| ND | 10.15 | 8.96 | 7.30 | 4.68 | 4.35 |
| EE± | 0.73 | 2.92 | 2.50 | 1.99 | 1.37 |

SP: Sacchapulido, U: Urea, *k*: Tasa de degradación ruminal (% h⁻¹), PD: Sustrato potencialmente degradable, ND: Sustrato no degradable, EE: Error estándar.

Cuadro 8. Parámetros obtenidos con el ajuste para la fibra detergente ácido del forraje Elefante y del Sacchapulido con diferentes niveles de urea

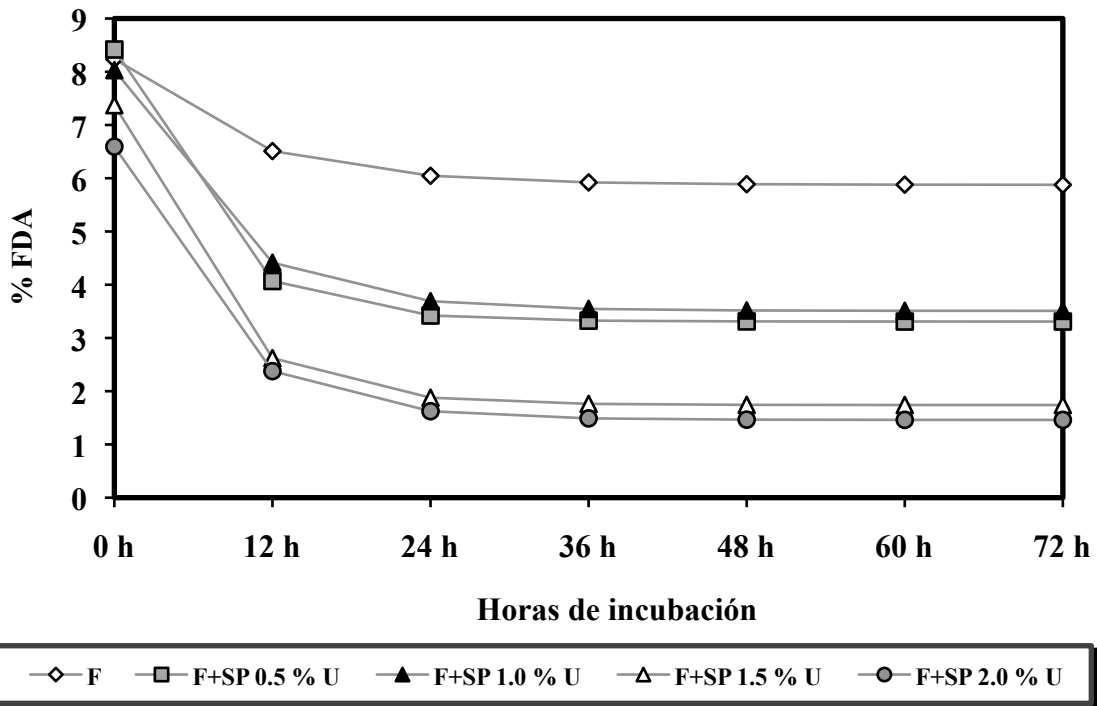
| Parámetros | Solo Forraje | Forraje Elefante más | | | |
|------------|--------------|----------------------|------------|------------|------------|
| | | SP 0.5 % U | SP 1.0 % U | SP 1.5 % U | SP 2.0 % U |
| <i>k</i> | 0.10 | 0.15 | 0.13 | 0.14 | 0.13 |
| PD | 2.36 | 5.11 | 4.52 | 5.63 | 5.13 |
| ND | 5.88 | 3.31 | 3.51 | 1.74 | 1.46 |
| EE± | 0.52 | 1.39 | 1.30 | 1.41 | 0.81 |

SP: Sacchapulido, U: Urea, *k*: Tasa de degradación ruminal (% h⁻¹), PD: Sustrato potencialmente degradable, ND: Sustrato no degradable, EE: Error estándar.



F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

Figura 16. Ajuste de la fibra detergente neutro del forraje Elefante y del Sacchapulido, tomando en cuenta los residuales

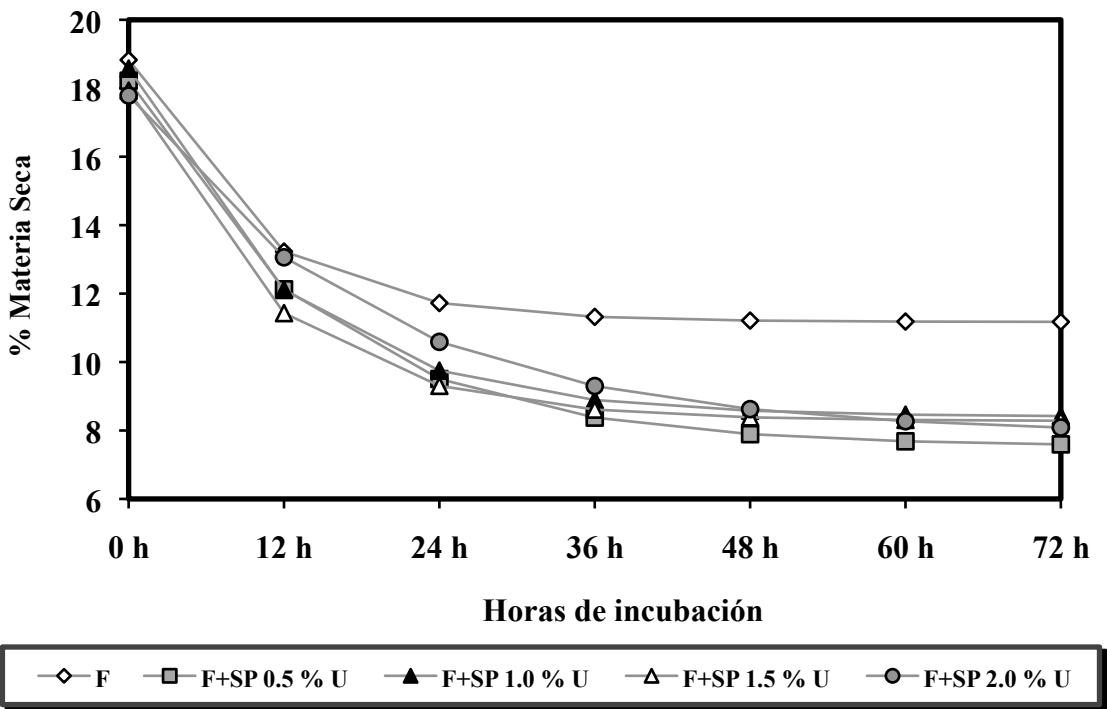


F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

Figura 17. Ajuste de la fibra detergente ácido del forraje Elefante y del Sacchapulido, tomando en cuenta los residuales

6.5.1. Ajuste de los parámetros utilizados para la evaluación de los efectos del Sacchapulido sobre el forraje Elefante

Cuando se ajustó los parámetros de MS obtenidos experimentalmente de los efectos del Sacchapulido sobre el forraje tomando en cuenta los residuales (Figura 18), se obtuvo que cuando se suplementó con SP, independientemente del nivel de U, se redujo la cantidad de residuos de MS del forraje con respecto al tratamiento donde no hubo suplementación, así mismo e independientemente del nivel de U en el SP, estos incrementaron la PD y redujeron el ND del forraje (Cuadro 9).



F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

Figura 18. Ajuste de los efectos del Sacchapulido sobre la materia seca del forraje Elefante, tomando en cuenta los residuales

Cuando se obtuvo el ajuste de los parámetros de FDN obtenidos experimentalmente de los efectos del Sacchapulido sobre el forraje tomando en cuenta los residuales (Figura 19), se encontró que cuando se suplementó con SP independientemente del nivel de U, se redujo la cantidad de FDN residual del forraje, así mismo, el SP con 1.5 y 2 % de U tuvieron los mayores incrementos del PD del forraje, y estos mismos presentaron mayor reducción del ND del forraje (Cuadro 10).

Cuando se midió el ajuste de los parámetros de FDA obtenidos experimentalmente de los efectos del Sacchapulido sobre el forraje tomando en cuenta los residuales (Figura 20), se encontró que cuando se suplementó con SP independientemente del nivel de U, se redujo la cantidad de residuos de FDA en el forraje incubado, así mismo, cuando se suplementó con SP al 1.5 % de U, se presentó el mayor incremento en la PD del forraje y con el SP al 1.5 y 2 % de U se redujo la mayor cantidad de ND (Cuadro 11).

Cuadro 9. Parámetros obtenidos con el ajuste para los efectos del Sacchapulido sobre la materia seca del forraje Elefante

| Parámetros | Solo Forraje | Forraje Elefante más | | | |
|------------|--------------|----------------------|------------|------------|------------|
| | | SP 0.5 % U | SP 1.0 % U | SP 1.5 % U | SP 2.0 % U |
| <i>k</i> | 0.10 | 0.07 | 0.09 | 0.09 | 0.05 |
| PD | 7.66 | 10.69 | 10.18 | 9.66 | 9.90 |
| ND | 10.85 | 7.53 | 8.40 | 8.27 | 7.88 |
| EE± | 11.17 | 10.32 | 10.87 | 12.59 | 12.48 |

SP: Sacchapulido, U: Urea, *k*: Tasa de degradación ruminal (% h⁻¹), PD: Sustrato potencialmente degradable, ND: Sustrato no degradable, EE: Error estándar.

Cuadro 10. Parámetros obtenidos con el ajuste para los efectos del Sacchapulido sobre la fibra detergente neutro del forraje Elefante

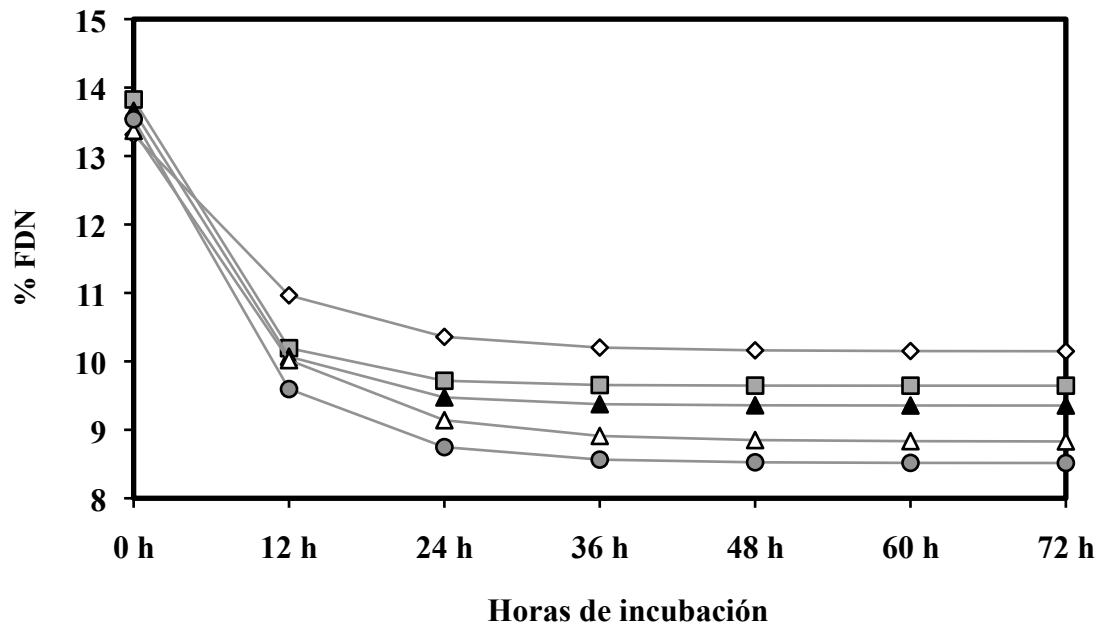
| Parámetros | Solo Forraje | Forraje Elefante más | | | |
|------------|--------------|----------------------|------------|------------|------------|
| | | SP 0.5 % U | SP 1.0 % U | SP 1.5 % U | SP 2.0 % U |
| <i>k</i> | 0.11 | 0.17 | 0.15 | 0.11 | 0.12 |
| PD | 3.17 | 4.18 | 4.31 | 4.54 | 5.02 |
| ND | 10.15 | 9.65 | 9.35 | 8.83 | 8.51 |
| EE± | 0.76 | 0.40 | 0.33 | 0.35 | 0.34 |

SP: Sacchapulido, U: Urea, *k*: Tasa de degradación ruminal (% h⁻¹), PD: Sustrato potencialmente degradable, ND: Sustrato no degradable, EE: Error estándar.

Cuadro 11. Parámetros obtenidos con el ajuste para los efectos del Sacchapulido sobre la fibra detergente ácido del forraje Elefante

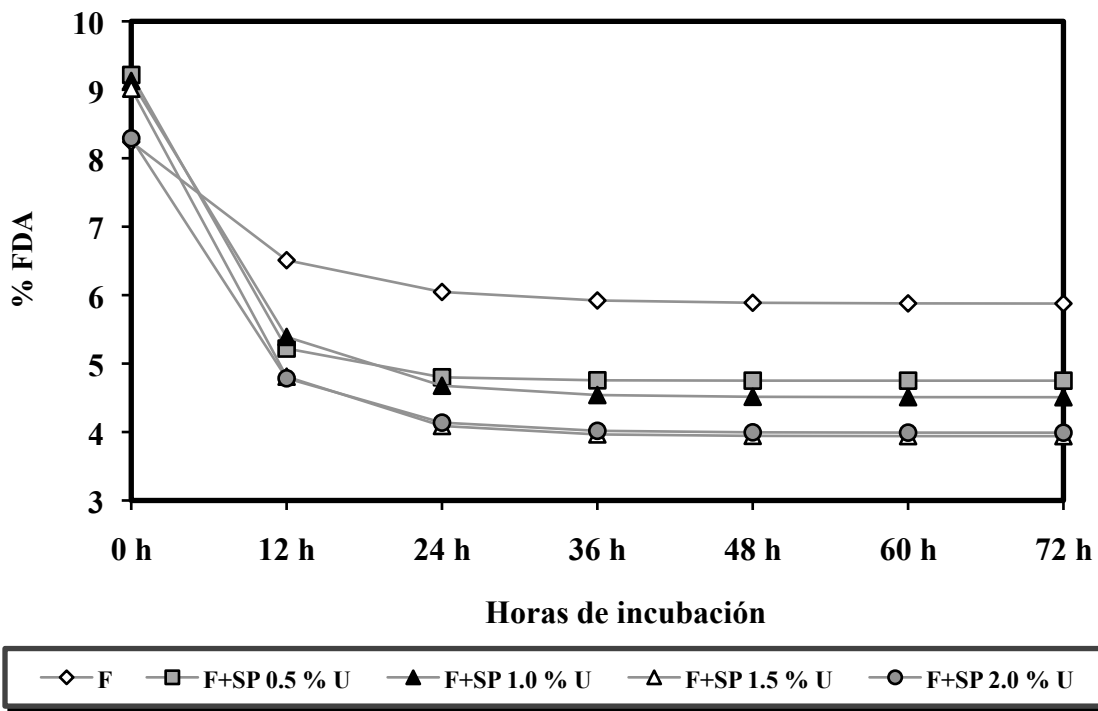
| Parámetros | Solo Forraje | Forraje Elefante más | | | |
|------------|--------------|----------------------|------------|------------|------------|
| | | SP 0.5 % U | SP 1.0 % U | SP 1.5 % U | SP 2.0 % U |
| <i>k</i> | 0.10 | 0.17 | 0.13 | 0.14 | 0.13 |
| PD | 2.36 | 4.47 | 4.62 | 5.08 | 4.30 |
| ND | 5.88 | 4.75 | 4.51 | 3.94 | 3.99 |
| EE± | 0.52 | 0.39 | 0.69 | 0.53 | 0.74 |

SP: Sacchapulido, U: Urea, *k*: Tasa de degradación ruminal (% h⁻¹), PD: Sustrato potencialmente degradable, ND: Sustrato no degradable, EE: Error estándar.



F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

Figura 19. Ajuste de los efectos del Sacchapulido sobre la fibra detergente neutro del forraje Elefante, tomando en cuenta los residuales



F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

Figura 20. Ajuste de los efectos del Sacchapulido sobre la fibra detergente ácido del forraje Elefante, tomando en cuenta los residuales

6.6. Degradación efectiva ruminal del forraje Elefante y los suplementos

Con respecto a la degradación efectiva ruminal de la materia seca (DERMS) del forraje y los suplementos, de las tasas de pasaje ruminal utilizadas hipotéticamente (0.03, 0.044 y 0.05 % h⁻¹), el forraje presentó los valores más bajos (P<0.001) con relación a los suplementos y fue el SP al 2 % de U el que tuvo el valor más alto (P<0.05) de DERMS (Cuadro 12). Se observó también que a menor tasa de pasaje, la DERMS fue mayor.

Para la degradación efectiva ruminal de la materia orgánica (DERMO) del forraje y los suplementos, en todas las tasas de pasaje ruminal (0.03, 0.044 y 0.05 % h⁻¹), el forraje presentó el valor más bajo (P<0.001) con relación a los suplementos, y entre estos, el SP con 2 % de U tuvo el valor más alto (P<0.05) de DERMO (Cuadro 13).

Cuadro 12. Degradación efectiva ruminal de la materia seca del forraje Elefante y de los suplementos con diferentes tasas de pasaje

| Tasas de pasaje | Solo Forraje | Forraje Elefante más | | | | EE± |
|-----------------|-------------------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------|
| | | SP 0.5 % U | SP 1.0 % U | SP 1.5 % U | SP 2.0 % U | |
| $k= 0.03$ | 36.4 ^d | 47.2 ^c | 47.2 ^c | 52.4 ^b | 55.2 ^a | 0.25*** |
| $k= 0.044$ | 33.1 ^d | 42.7 ^c | 42.9 ^c | 49.7 ^b | 52.0 ^a | 0.20*** |
| $k= 0.05$ | 31.9 ^d | 41.1 ^c | 41.4 ^c | 48.6 ^b | 50.7 ^a | 0.19*** |

SP: Sacchapulido, U: Urea, k : Tasa de pasaje ruminal (% h⁻¹).

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma fila indican diferencias (Tukey, P<0.05).

***P<0.001.

Cuadro 13. Degradación efectiva ruminal de la materia orgánica del forraje Elefante y de los suplementos con diferentes tasas de pasaje

| Tasas de pasaje | Solo Forraje | Forraje Elefante más | | | | EE± |
|-----------------|--------------------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------|
| | | SP 0.5 % U | SP 1.0 % U | SP 1.5 % U | SP 2.0 % U | |
| $k= 0.03$ | 32.04 ^d | 41.47 ^c | 41.14 ^c | 45.83 ^b | 48.21 ^a | 0.14*** |
| $k= 0.044$ | 29.21 ^d | 37.65 ^c | 37.53 ^c | 43.47 ^b | 45.67 ^a | 0.11*** |
| $k= 0.05$ | 28.24 ^d | 36.26 ^c | 36.22 ^c | 42.56 ^b | 44.65 ^a | 0.11*** |

SP: Sacchapulido, U: Urea, k : Tasa de pasaje ruminal (% h⁻¹).

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma fila indican diferencias (Tukey, P<0.05).

***P<0.001.

Con respecto a la degradación efectiva ruminal de la FDN (DERFDN) del forraje y los suplementos, en todos las tasas de pasaje ruminal, el forraje presentó los valores más bajos (P<0.001) con relación a los tratamientos con suplemento. Dentro de los suplementos, los mayores valores (P<0.001) de DERFDN se encontraron con el SP al 1.5 y 2 % de U, sin diferencias entre estos, intermedio con el SP al 1 % de U y el menor valor (P<0.05), con el SP al 0.5 % de U, para todas las tasas de pasaje ruminal estudiadas (Cuadro 14).

Cuadro 14. Degradación efectiva ruminal de la fibra detergente neutro del forraje Elefante y de los suplementos con diferentes tasas de pasaje

| Tasas de pasaje | Solo Forraje | Forraje Elefante más | | | | EE± |
|-----------------|--------------------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------|
| | | SP 0.5 % U | SP 1.0 % U | SP 1.5 % U | SP 2.0 % U | |
| $k= 0.03$ | 19.55 ^d | 37.92 ^c | 43.79 ^b | 53.51 ^a | 54.16 ^a | 0.12*** |
| $k= 0.044$ | 17.67 ^d | 35.21 ^c | 40.41 ^b | 49.01 ^a | 49.77 ^a | 0.11*** |
| $k= 0.05$ | 17.02 ^d | 34.22 ^c | 39.19 ^b | 47.39 ^a | 48.23 ^a | 0.10*** |

SP: Sacchapelido, U: Urea, k : Tasa de pasaje ruminal (% h⁻¹).

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma fila indican diferencias (Tukey, P<0.05).

***P<0.001.

De manera similar a la degradación efectiva ruminal de las fracciones señaladas con anterioridad, la de la FDA (DERFDA) del forraje y los suplementos, en todos las tasas de pasaje ruminal, el forraje obtuvo los valores más bajos (P<0.05). Cuando se usó la menor tasa de pasaje (0.03 % h⁻¹), el SP con 0.5, 1.0 y 2 %, tuvieron los mayores valores (P<0.001) de DERFDA, sin diferencias entre estos; el menor valor (P<0.05) se encontró con SP al 1.5% de U, con relación al SP al 2 % de U y este valor menor fue similar (P<0.05) a los otros suplementos. En las otras tasas de pasaje ruminal (0.044 y 0.05 % h⁻¹), no hubo diferencias (P<0.05) en la DERFDA para los diferentes suplementos estudiados (Cuadro 15).

Cuadro 15. Degradación efectiva ruminal de la fibra detergente ácido del forraje Elefante y de los suplementos con diferentes tasas de pasaje

| Tasas de pasaje | Solo Forraje | Forraje Elefante más | | | | EE± |
|-----------------|-------------------|----------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------|
| | | SP 0.5 % U | SP 1.0 % U | SP 1.5 % U | SP 2.0 % U | |
| $k= 0.03$ | 7.23 ^c | 29.27 ^{ab} | 29.64 ^{ab} | 28.98 ^b | 30.66 ^a | 0.11*** |
| $k= 0.044$ | 6.50 ^b | 25.39 ^a | 25.84 ^a | 25.20 ^a | 25.71 ^a | 0.10*** |
| $k= 0.05$ | 6.27 ^b | 24.22 ^a | 24.71 ^a | 24.09 ^a | 24.14 ^a | 0.10*** |

SP: Sacchapelido, U: Urea, k : Tasa de pasaje ruminal (% h⁻¹).

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma fila indican diferencias (Tukey, P<0.05).

***P<0.001.

6.6.1. Efectos de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la degradación efectiva ruminal del forraje Elefante

Para el efecto de los suplementos sobre la degradación efectiva ruminal de la MS (DERMS) del forraje a diferentes tasas de pasaje, independiente del nivel de U en el SP, estos incrementaron la DERMS del forraje ($P < 0.001$). Cuando se usó la tasa de pasaje de 0.03 \% h^{-1} , el SP con 0.5 y 1.5 % de U, incrementaron la DERMS del forraje en 9.5 y 9.7 unidades porcentuales, respectivamente, pero el valor del primero fue similar al obtenido cuando se usó el SP con 1.0 % de U y el valor de este último, fue similar al encontrado con el SP al 2 % de U. Para las tasas de pasaje de 0.044 y 0.05 \% h^{-1} , el mayor incremento ($P < 0.001$) en la DERMS del forraje se encontró cuando se suplementó el SP con 0.5 y 1.5 % de U, y los menores incrementos ($P < 0.05$) se tuvieron cuando se suplementó con SP al 1.0 y 2 % de U (Cuadro 16).

Con relación al efecto de los suplementos sobre la degradación efectiva ruminal de la materia orgánica (DERMO) del forraje a diferentes tasas de pasaje, en todas las tasas de pasaje, independiente del nivel de U, el SP incrementó ($P < 0.001$) la DERMO del forraje. Los mayores incrementos ($P < 0.001$) en la DERMO del forraje se encontraron al suplementar con SP al 0.5 y 1.5 % de U, seguidos por SP al 1.0 % de U y la DERMO más baja se registró con SP al 2 % de urea para todas las tasas de pasaje (Cuadro 17).

Cuadro 16. Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la degradación efectiva ruminal de la materia seca del forraje Elefante con diferentes tasas de pasaje ruminal

| Tasas de pasaje | Solo Forraje | Forraje Elefante más | | | | EE± |
|-----------------|--------------------|----------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------|
| | | SP 0.5 % U | SP 1.0 % U | SP 1.5 % U | SP 2.0 % U | |
| $k = 0.03$ | 36.38 ^d | 45.91 ^{ab} | 44.09 ^{bc} | 46.06 ^a | 43.02 ^c | 0.19*** |
| $k = 0.044$ | 33.09 ^c | 41.35 ^a | 39.84 ^b | 42.16 ^a | 38.64 ^b | 0.14*** |
| $k = 0.05$ | 31.96 ^c | 39.76 ^a | 38.34 ^b | 40.79 ^a | 37.15 ^b | 0.13*** |

SP: Sacchapulido, U: Urea, k : Tasa de pasaje ruminal (\% h^{-1}).

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma fila indican diferencias (Tukey, $P < 0.05$).

*** $P < 0.001$.

Cuadro 17. Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la degradación efectiva ruminal de la materia orgánica del forraje Elefante con diferentes tasas de pasaje ruminal

| Tasas de pasaje | Solo Forraje | Forraje Elefante más | | | | EE± |
|-----------------|--------------------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------|
| | | SP 0.5 % U | SP 1.0 % U | SP 1.5 % U | SP 2.0 % U | |
| $k= 0.03$ | 32.04 ^d | 41.38 ^a | 39.29 ^b | 41.08 ^a | 37.87 ^c | 0.11*** |
| $k= 0.044$ | 29.21 ^d | 37.44 ^a | 35.62 ^b | 37.69 ^a | 34.14 ^c | 0.09*** |
| $k= 0.05$ | 28.24 ^d | 36.05 ^a | 34.31 ^b | 36.49 ^a | 32.87 ^c | 0.09*** |

SP: Sacchapulido, U: Urea, k : Tasa de pasaje ruminal (% h⁻¹).

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma fila indican diferencias (Tukey, P<0.05).

***P<0.001.

Con relación al efecto de los suplementos sobre la degradación efectiva ruminal de la fibra detergente neutro (DERFDN) del forraje a diferentes tasas de pasaje, en todas las tasas de pasaje, independiente del nivel de U en el SP, estos incrementaron la DERFDN del forraje (P<0.001). El SP con 2 % de U fue el que tuvo mayor efecto (P<0.001) con respecto al resto de los suplementos, que fueron similares entre estos; el incremento fue de 10.6, 9.8 y 9.5 unidades porcentuales para las tasas de pasaje ruminal de 0.03, 0.44 y 0.05 % h⁻¹, respectivamente (Cuadro 18).

Cuando se midió el efecto de los suplementos sobre la degradación efectiva ruminal de la fibra detergente ácido (DERFDA) del forraje a diferentes tasas de pasaje, en todas las tasas de pasaje, independiente del nivel de U en el SP, estos incrementaron la DERFDA del forraje (P<0.001). El SP con 1.5 % de U tuvo mayor efecto (P<0.001) sobre esta variable, con respecto a los otros suplementos, los cuales fueron similares entre sí; este incremento fue de 21.1, 18.8 y 18.0 unidades porcentuales para las tasas de recambio ruminal de 0.03, 0.44 y 0.05 % h⁻¹, respectivamente (Cuadro 19).

Cuadro 18. Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la degradación efectiva ruminal de la fibra detergente neutro del forraje Elefante con diferentes tasas de pasaje ruminal

| Tasas de pasaje | Solo Forraje | Forraje Elefante más | | | | EE± |
|-----------------|--------------------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------|
| | | SP 0.5 % U | SP 1.0 % U | SP 1.5 % U | SP 2.0 % U | |
| $k= 0.03$ | 19.40 ^c | 25.73 ^b | 26.54 ^b | 26.56 ^b | 30.00 ^a | 0.11*** |
| $k= 0.044$ | 17.50 ^c | 23.69 ^b | 24.30 ^b | 23.98 ^b | 27.30 ^a | 0.11*** |
| $k= 0.05$ | 16.84 ^c | 22.97 ^b | 23.51 ^b | 23.07 ^b | 26.34 ^a | 0.11*** |

SP: Sacchapulido, U: Urea, k : Tasa de pasaje ruminal (% h⁻¹).

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma fila indican diferencias (Tukey, P<0.05).

***P<0.001.

Cuadro 19. Efecto de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre la degradación efectiva ruminal de la fibra detergente ácido del forraje Elefante con diferentes tasas de pasaje ruminal

| Tasas de pasaje | Solo Forraje | Forraje Elefante más | | | | EE± |
|-----------------|-------------------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------|
| | | SP 0.5 % U | SP 1.0 % U | SP 1.5 % U | SP 2.0 % U | |
| $k= 0.03$ | 7.31 ^c | 20.84 ^b | 22.19 ^b | 28.36 ^a | 21.31 ^b | 0.29*** |
| $k= 0.044$ | 6.55 ^c | 19.14 ^b | 19.30 ^b | 25.31 ^a | 18.92 ^b | 0.29*** |
| $k= 0.05$ | 6.32 ^c | 18.51 ^b | 18.38 ^b | 24.27 ^a | 18.15 ^b | 0.29*** |

SP: Sacchapulido, U: Urea, k : Tasa de pasaje ruminal (% h⁻¹).

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma fila indican diferencias (Tukey, P<0.05);

***P<0.001.

VII. DISCUSIÓN

Los valores bromatológicos del forraje Elefante (*Pennisetum purpureum* Schumacher) son similares a lo reportado por Guimarães *et al.* (2001); el contenido de PB está dentro del rango señalado por Enríquez *et al.* (1999), a edades tempranas de rebrote y dentro del rango mencionado por Pineda (2004). Sin embargo, el contenido de MS y FDN fue menor al encontrado por Ramos (2005) para el mismo forraje, en la misma área experimental, pero el contenido de PB fue mayor en este estudio, lo anterior pudiera estar relacionado a que durante el corte se tuvo el cuidado de buscar pasto con mayor contenido de hoja. Al respecto, Rodríguez-Carrasquel (1983) informó que el pasto Elefante tiene mayor contenido de PB y MS en las hojas con respecto al tallo, y la PB disminuye con la edad de la planta, reporta valores de 12.7 y 9.2 % de PB a los 30 y 60 d de rebrote, respectivamente, en las hojas y de 7.5 y 3.5 % en los tallos; ocurriendo lo contrario en la MS, ya que esta se incrementa con la edad de la planta, siendo de 16.5 y 8.9 % a los 30 d en hojas y tallos, respectivamente, y de 21.4 y 13.3 % a los 60 d.

En relación a los suplementos, los valores de MS son mayores a los obtenidos a nivel de laboratorio por Caraveo (2008), para el mismo alimento y niveles de urea estudiados, lo anterior puede estar relacionado a que en este estudio la fermentación del alimento se realizó en campo, en área abierta donde corría aire; al respecto, Ramos (2005) obtuvo valores similares de MS en el SP con 2 % de U bajo las mismas condiciones de fermentación. Con respecto a la PB, esta se incrementa con la adición de la urea; sin embargo, los valores obtenidos son mayores a los reportados por Caraveo (2008) y Ramos (2005). Por otro lado, los valores de PV son mayores a los reportados por Caraveo (2008) y similar a lo reportado por Ramos (2005). No obstante, los valores de FDN y FDA, son menores a los reportados por Caraveo (2008) y similar a lo reportado por Ramos (2005).

El pH ruminal disminuyó después del consumo del alimento; sin embargo, en todos los horarios estudiados, este fue superior a 6.2 (Figura 5) y ha sido mencionado por Cobos *et al.* (2005), que el pH ruminal para maximizar la eficiencia fermentativa de los pastos y forrajes debe ser de 6.2 a 7.0, congruente con lo anterior Pineda (2004) señala que debe ser 6.4 a 7.0. Calsamiglia *et al.* (2008), Galindo *et al.* (2005) y Elías (1983),

coinciden en señalar que valores por debajo de 6, tienen efecto depresivo en la celulólisis ruminal.

El pH ruminal de los animales alimentados solo con forraje, es similar al reportado por Moraes *et al.* (2001) en toretes canulados en rumen con dieta similar y el pH de los animales suplementados con SP con 2 % de U es similar a lo reportados por Ramos (2005) para el mismo alimento.

Ha sido mencionado por Mouriño *et al.* (2001), Rosario (2005) y Cardozo (2005), que de acuerdo a la cantidad de suplemento ofrecido, los alimentos ricos en grano pueden favorecer el desarrollo y la actividad de las bacterias amilolíticas las cuales degradan y fermentan rápidamente los almidones y azúcares, favoreciendo la producción de ácido láctico y la reducción del pH ruminal, lo cual puede inhibir la digestibilidad de la fracción fibrosa de los forrajes y el consumo voluntario. Sin embargo, el Sacchapulido en este estudio, a pesar de tener 20 % de pulido de arroz y 4 % de pasta de soya, no afectó el pH ruminal, posiblemente por la cantidad del suplemento ofrecido (6 g kg^{-1} de peso vivo base seca) ya que según Elías (1983) y Horn y McCollum (1987) esta cantidad estimula la digestión y el consumo de forraje. Además, la fracción fibrosa de los suplementos pudo estimular la rumia y producción de saliva, regulando esta última los niveles de pH debido a que es rica en fosfatos y bicarbonatos (Nava y Díaz, 2001) controlando el efecto de los AGV (Cuadro 4) y ácido láctico producidos durante la fermentación.

La concentración de N-NH_3 encontrado a las 2 h en el rumen de los animales que consumieron solo forraje fue ligeramente superior a los 8 mg dL^{-1} considerado por Henderickx (1976) y Ruiz y Ayala (1987) como la concentración óptima para maximizar la síntesis microbiana en rumen (Figura 6), posteriormente, en todos los horarios estudiados, la concentración de N-NH_3 fue menor a los 8 mg dL^{-1} a pesar de que el pasto tuvo valores de 11.4 % de PB (Cuadro 2) y pudiera ser considerado como un pasto de buena calidad, por lo tanto, en un pasto con menor contenido de PB, el aporte de N-NH_3 rumen pudiera ser menor, limitando el crecimiento microbiano en rumen. No obstante Mathis *et al.* (2000) mencionaron que valores de 7 % de PB (rango de 6 a 8 %) en el pasto y forraje es el límite para mantener una eficiente actividad microbiana en el rumen. Por lo cual, Pérez *et al.* (2001) y Peruchena (2004) han señalado como una de las

limitantes en la producción animal en el trópico, es el bajo contenido de PB y digestibilidad de los pastos y forrajes por lo cual es necesario suplementarlos con fuentes nitrogenadas.

La concentración de N-NH₃ fue mayor en los animales suplementados con el SP con respecto a los animales alimentados solo con forraje y esto pudiera estar relacionado a la adición de urea y pasta de soya (4 %) en el SP, según Araque (2001) la urea es rápidamente hidrolizada a amoníaco en el rumen así como la proteína de la pasta de soya, según el NRC (2001) tiene alta degradación ruminal (45 %).

A las 2 h después de la suplementación, se observó el máximo pico en la concentración de N-NH₃ (Figura 6) lo cual pudiera atribuirse a que la producción de amoníaco producto del nitrógeno (N) soluble o degradable de la urea, transcurre a mayor velocidad que su utilización en rumen, según Hristov y Ropp (2003), los carbohidratos estructurales no están disponibles inmediatamente para que los microorganismos ruminales los usen como fuente de energía y debido a esta no sincronización, se incrementa la cantidad de amoníaco en rumen.

El máximo pico en la concentración de N-NH₃ depende de la degradabilidad ruminal, del contenido de N y de la cantidad de carbohidratos fácilmente fermentable en rumen de los ingredientes que se usen en el suplemento, de la cantidad y de la frecuencia de alimentación.

Ramos (2005), al suplementar a toretes fistulados en rumen con SP con 2 % de U una vez al día, obtuvo resultados similares a nuestro estudio. Vergara-López *et al.* (2006) al suplementar a toretes canulados en rumen con Pasto Alemán (PA) más 2 kg de alimento concentrado, PA más 2 kg de *Leucaena leucocephala* una vez al día, y PA más 2 kg *L. leucocephala*, 1 Kg a las 08:00 h y otro a las 15:00 h, obtuvieron el máximo pico en la concentración de N-NH₃ hasta las 9 h después de la suplementación, siendo mayor la concentración de N-NH₃ cuando se suplementó los 2 kg de *L. leucocephala* una vez al día, cuando esta se suplementó fraccionada (dos veces al día), la concentración fue menor. Por su parte Boucher *et al.* (2007), suplementaron vacas en lactación canuladas en rumen con silo de maíz más un suplemento con niveles crecientes de urea (0, 0.3, 0.6 y 0.9 % base seco), en tres frecuencias de alimentación (a las 5:00, 13:00 y 21:00 h), ofrecieron 20 % de la ración en la primer frecuencia, 50 % en la segunda y 30 % en la

tercera. No obtuvieron picos en la concentración de N-NH₃; sin embargo, a medida que incrementó el nivel de urea en la dieta se incrementó la concentración de N-NH₃ en el rumen. Por otra parte, Casper *et al.* (1999), suplementaron vacas con dos fuentes de carbohidratos no estructurales (maíz y cebada) y dos fuentes de proteína de baja degradación en rumen (harina de soya normal y extrusado), en una sola frecuencia de alimentación, ellos obtuvieron el máximo pico en la concentración de N-NH₃ a las 2 h después de la suplementación, la mayor concentración de N-NH₃ la obtuvieron con maíz más harina de soya. Así mismo, Hess *et al.* (1996), usó animales de engorda alimentados básicamente con *Festuca arundinacea* suplementados con maíz quebrado y salvado de trigo a dos niveles (0.34 y 0.48 % de peso vivo, respectivamente), ofreció el suplemento a una sola frecuencia y encontró un máximo pico en la concentración de N-NH₃ a las 3 h después de la suplementación, la máxima concentración de N-NH₃ lo obtuvo con el salvado de trigo con 0.48 % de PV, lo cual pudiera estar relacionado con la cantidad y degradabilidad del suplemento ofertado.

La disminución en la concentración de N-NH₃ después de las 2 h pudiera deberse a que el N-NH₃ es utilizado para síntesis de proteína microbiana (Oba y Allen, 2003; Baumann *et al.*, 2004) además, de la posible absorción en las paredes celulares del rumen.

Para maximizar la síntesis de proteína microbiana en rumen, se requiere de una sincronización en la dieta, es decir, la proteína y la energía deben de estar disponible al mismo tiempo, si se usa N degradable en la dieta, usar carbohidratos fácilmente degradable. Según Araque *et al.* (2000) y McCormick *et al.* (2001) los carbohidratos disponibles de la dieta son usados como fuentes de energía para el crecimiento de los microorganismos del rumen y así poder utilizar eficientemente el NH₃ en la síntesis de aminoácidos.

Las proporciones porcentuales de ácido acético, propiónico y butírico a las 0 h, coinciden con los reportados por Mejía-Haro *et al.* (2003) con mismos horario, cuando probaron diferentes cantidades de proteína no degradable en rumen, y con Ramos (2005), cuando utilizó el SP con 2 % de U. Al incrementar las horas de muestreo, los animales alimentados solo con forraje mantienen las mismas proporciones; sin embargo, en los animales suplementados con Sacchaplido, la proporción de ácido acético disminuyó y el ácido propiónico y butírico se incrementó.

El SP, independientemente del nivel de U, presentaron mayor DIMS con respecto al solo forraje, esto pudiera deberse a que el SP tuvo mayores fracciones de sustrato potencialmente degradables en rumen, y que pudieron ser degradados con mayor facilidad por los microorganismos que con respecto al solo forraje. Así mismo, la mayor DIMO, pudo deberse a las fracciones de materia seca que están disponibles para mayor degradación y ser fácilmente digeridos en rumen.

Por otro lado, los valores de DIPB pudo ser afectada por la adherencia microbial, ya que según Wallace (1985), Russell y Wilson (1996), Weimer (1996), Fondevila y Dehority (1996) y Matsui *et al.* (1998), los microorganismos ruminales necesitan adherirse a las partículas del forraje, estos microorganismos son ricos en proteína verdadera y según Nocek (1987), Nocek y Grant (1987), Olubobokun *et al.* (1990), Marinucci *et al.* (1992) y Ortega y Carranco (1993), señalan que la degradación real de la proteína puede ser errónea debido a esta adherencia microbial hacia las muestras de la dieta después de la incubación ruminal.

La mayor digestibilidad de las fracciones de fibra en el SP en relación al forraje, pudieran deberse a que el SP presentó mayor disponibilidad de carbohidratos fácilmente degradables y mantuvo niveles altos de N-NH₃ lo cual, pudo haber propiciado una mayor actividad celulolítica ruminal, presentándose una mayor degradación de la FDN y FDA.

Cuando se midió los efectos de la suplementación con SP en la digestibilidad del forraje, hubo incrementos en la degradación de los diferentes componentes del forraje, el incremento en la digestibilidad de la materia seca y materia orgánica pudieran estar relacionados con los niveles de N-NH₃ encontrados en el rumen de los animales suplementados con SP, ya que un nivel alto y constante de NH₃ en rumen regula el pH (Hristov y Ropp, 2003) y según Leng (1990) estimula el consumo voluntario, además, aumenta la digestibilidad de la dieta. Así mismo, los incrementos en la digestibilidad de la FDN del forraje podrían estar relacionados con la secreción de enzimas β 1-4 glucosidasas, producida por la población bacteriana estimuladas por el SP y el incremento en la degradación de la pared celular del forraje por acción de esta enzima (Galindo *et al.*, 2005).

Los incrementos en la FDA del forraje cuando se suplementó con SP, podría indicar que la población bacteriana con actividad celulolítica fue estimulada por el SP para actuar de manera eficiente sobre la degradación de la fracción mas insoluble de la pared celular del forraje, dejando a disposición del sistema ruminal los carbohidratos estructurales para una máxima digestibilidad de la fracción de fibra del forraje.

La mayor DIMS, DIFDN y DIFDA del SP con 1.5 y 2 % de U puede estar relacionado a que tuvieron una mayor tasa de degradación ruminal de la pared celular, cantidad de sustrato potencialmente degradable en rumen y menor sustrato no degradable como se muestra en los cuadros 6, 7 y 8.

Por otro lado, el incremento en la DIMS, DIFDN y DIFDA del forraje cuando se suplementó el SP con 1.5 y 2 % de U pudiera estar relacionado también a que estos incrementaron la cantidad de sustrato potencialmente degradable del forraje y disminuyeron la cantidad de sustrato no degradable en rumen (Cuadro 9, 10 y 11). Así mismo, como se indicó anteriormente, estos tratamientos, mantuvieron los mayores niveles de N-NH₃ en rumen, aportando fuentes de N al sistema ruminal para el crecimiento de la población bacteriana con actividad celulolítica responsable de la degradación de la fracción fibrosa del alimento. Además, el pH se mantuvo en rangos óptimos para no afectar la celulólisis ruminal. También pudo deberse al aporte oportuno de proteína degradable y energía en rumen, maximizando la actividad microbiana, ya que de acuerdo a Araque *et al.* (2001) y McCormick *et al.* (2001) los carbohidratos disponibles de la dieta son usados como fuentes de energía para el crecimiento de los microorganismos del rumen, los cuales a su vez, son responsables de la celulólisis ruminal.

Al incrementar la disponibilidad de los carbohidratos estructurales de los forrajes tropicales para la nutrición del rumiante, se incrementa el consumo voluntario, la producción de carne o leche (Pineda, 2004 y Garmendia, 2005) y se puede mejorar eficientemente el uso de pastos y forrajes (Peruchena, 2004). Se ha mencionado que en las regiones tropicales existe un elevado potencial para la producción bovina (Román, 1995) donde el pasto y los forraje son la base de la alimentación más abundante y económica, pero es necesario buscar alternativas viables para compensar las deficiencias nutricionales que presentan los pastos y forrajes de estas regiones como pudiera ser el

uso de Sacchapulido como complemento al pasto el cual incrementa la utilización de las paredes celulares del forraje.

Un aspecto importante a considerar en los alimentos producidos por FES (Sacchapulido), es que en los mismos se utiliza una tecnología sencilla que cualquier productor la puede aplicar en su finca; además, pudiera producir la mayoría de los ingredientes (caña de azúcar, sorgo, maíz) en la misma finca. Esto disminuiría los costos por concepto de alimentación y dejarían de depender de insumos externos, que algunas veces presentan gran variación en los costos, en dependencia de la oferta y la demanda.

VIII. CONCLUSIONES

- El SP, independiente del nivel de U, mantiene los patrones de fermentación ruminal en niveles óptimos, sin afectar la celulólisis ruminal.
- Las mejores condiciones en los patrones de fermentación ruminal, se establecen cuando se usa el 1.5 y 2 % de U en el SP.
- El SP, independiente del nivel de U, incrementa la digestibilidad *in situ* de la materia seca y fracciones de fibra del forraje *Penisetum purpureum* Schumacher.
- Los mayores incrementos en las digestibilidades del forraje se obtienen cuando se usa el 1.5 y 2 % de U en el SP.
- Dado que el nivel de inclusión del 2 % de U en el SP es mayor que 1.5 %, se recomienda usar el 1.5 % de urea en el Sacchapulido.

IX. LITERATURA CITADA.

- Aguilera, B. A. 1988.** Evaluación del efecto de la suplementación del rastrojo amoniatizado sobre la cinética ruminal y digestibilidad en borregos Pelibuey. Tesis M.Sc. UNAM. FES–Cuautitlan. México D.F. 142 p.
- Alexander, A. G. 1988.** Sugarcane as a source of biomass. *In: sugarcane as feed. La caña de azúcar como pienso. FAO Animal Production and Health Paper.* Roma, Italia. 46–60 pp.
- Ángeles, C. S. C. 2006.** Fermentación ruminal, tamaño de partícula y efecto de la fibra en la alimentación de vacas lecheras. FMVZ – UNAM. *Bovinotecnia.* Boletín Técnico Virtual 8:3 México. D.F.
- A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists) 1995.** Official methods of analysis, AOAC International. 16th ed. Ed. Off. Agric. Chem. Washington, D. C.
- Araque, C., Arrieta, G. y Sandoval, E. 2000.** Evaluación del efecto de los bloques multinutricionales con y sin implante sobre la ganancia de peso en mautes. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 17:335–341.
- Araque, C. 2001.** La urea en la alimentación de rumiantes. FONAIAP–Centro de Investigaciones Agropecuarias del Estado Táchira, Venezuela. *on line:* www.ceniap.gov.ve/pbd/RevistasTecnicas/FonaiapDivulga/fd50/urea.htm
Consulta: Octubre 2008.
- Aranda, I. E. M. 2000.** Utilización de la caña de azúcar en la alimentación de rumiantes. Tesis Ph.D. Universidad Nacional Autónoma de México. FMVZ. Depto. de Ciencias Veterinarias. México, D. F. 90 p.
- Araujo, F. O. 2005.** Factores que afectan el consumo voluntario en bovinos en pastoreo en condiciones tropicales. IX Seminario de Pastos y Forrajes. Universidad del Zulia. Depto. Zootecnia. Maracaibo. 12 p.
- Bach, A., Calsamiglia, S. and Stern, M. D. 2005.** Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 88:(E. Suppl.)E9–E21.
- Baldwin, R. L. and Allison, M. J. 1983.** Rumen metabolism. *J. Anim. Sci.* 57:461–477.

- Baumann, T.A., Lardy, G.P., Caton, J.S. and Anderson, V.L. 2004.** Effect of energy source and ruminally degradable protein addition on performance of lactating beef cows and digestion characteristics of steers. *J. Anim. Sci.* 82:2667–2678.
- Boucher, S.E.; Ordway, R. S.; Whitehouse, N. L.; Lundy, F. P.; Kononoff, P. J. and Schwab, C. G. 2007.** Effect of incremental urea supplementation of a conventional corn silage–based diet on ruminal ammonia concentration and synthesis of microbial protein. *J. Dairy Sci.* 90:5619–5633.
- Calsamiglia, S. 1997.** Nuevas bases para la utilización de la fibra en dietas de rumiantes. XIII Curso de Especialización FEDNA. Barcelona, España. 16 p.
- Calsamiglia, S.; Cardozo, P. W.; Ferret, A. and Bach, A. 2008.** Changes in rumen microbial fermentation are due to a combined effect of type of diet and pH. *J. Anim. Sci.* 86:702–711.
- Cano, A. L., Aranda, I. E. M., Mendoza, M. G., Pérez, P.J. y Ramos, J.J.A. 2003.** Comportamiento de toretes en pastos tropicales suplementados con caña de azúcar y enzimas fibrolíticas. *Tec. Pecu. Méx.* 41(2):153–164.
- Caraveo, R. A. del C. 2008.** Efecto de los niveles de urea en la caña fermentada con pulidura de arroz (Sacchapulido). Tesis M.Sc. Colegio de Postgraduados. Campus Tabasco. 43 p.
- Cardozo, P. W. 2005.** Efectos de los extractos de plantas sobre las características de fermentación microbiana ruminal en sistemas *in vitro* e *in vivo*. Tesis Ph.D. Universidad Autónoma de Barcelona. Depto. de Ciencia Animal y de los Alimentos. Barcelona, España. 143 p.
- Carrasco, E., Boucourt, R., Elías, A. y Febles, I. 1998a.** Indicadores bromatológicos de la caña de azúcar fermentada con excreta vacuna y diferentes niveles de urea y grosor de la capa fermentativa. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 32:275–279.
- Carrasco, E., Boucourt, R., Elías, A. y Febles, I. 1998b.** Nivel de urea y grosor de la capa en los indicadores fermentativos de la caña de azúcar procesada con excreta vacuna. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 32:395–399.
- Casper, D. P.; Maiga, H. A.; Brouk, M. J. and Schingoethe, D. J. 1999.** Synchronization of carbohydrate and protein sources on fermentation and passage rates in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:1779–1790.

- Castillejos, L. V. 2005.** Modificación de la fermentación microbiana ruminal mediante compuestos de aceites esenciales. Tesis Ph.D. Universidad Autónoma de Barcelona. Depto. de Ciencia Animal y de los Alimentos. Barcelona, España. 178 p.
- Chen, G. and Russell, J. B. 1989a.** More monensin-sensitive, ammonia-producing bacteria from the rumen. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:1052–1057.
- Chen, G. and Russell, J. B. 1989b.** Sodium-dependent transport of branched-chain amino acids by a monensin-sensitive ruminal *Peptostreptococcus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:2658–2663.
- Chesson, A. and Forsberg, C.W. 1988.** Polysaccharide degradation by rumen microorganisms 251–284 *In: Hobson. P.N. The rumen microbial ecosystem.* Ed. *Elsevier Applied Science.* New York, USA. 527 p.
- Church, D. C. y Pond, W. G. 1996.** Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. Editorial UTEHA, Noriega Editores. México. D.F. 438 p.
- Church, D. C., W. G. Pond, y K. R. Pond. 2002.** Nutrición y alimentación de animales. (2nd ed.) Editorial Limusa, S. A. de C. V. Grupo Noriega Editores. México, D. F. 605–619 pp.
- Clark, J. H., T. H. Klusmeyer and M. R. Cameron. 1992.** Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 75:2304–2323.
- Cobos, M. A.; Guerra, M. E.; López, S. J.; Báez, J. L.; González, S. S. y Mendoza, M. G. 2005.** Evaluación *in vitro* de dos amortiguadores y un ionóforo sobre variables fermentativas y microbiológicas. *Agrociencia* 39:1–9.
- Coomer, J. C.; Amos, H. E.; Froetschel, M. A.; Ragland, K. K. and Williams, C. C. 1993.** Effects of supplemental protein source on ruminal fermentation, protein degradation, and amino acid absorption in steers and on growth and feed efficiency in steers and heifers. *J. Anim. Sci.* 71:3078–3086.
- Delgado, A., Valdés, G., Molina, A., Ruiz, R. y Aguilar, I. 1981.** Sistema de ceba basado en pastos con suplementación o sin suplementación. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 15:149–163.

- Delgado, A., Crespo, G., Elías, A. y Llanes A. 2002.** Ceba de ñojos en pastoreo con suplementación de miel/urea. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 36:45–49.
- Dewhurst, R. J.; Moorby, J. M.; Dhanoa, M. S.; Evans, R. T. and Fishert, W. J. 2000.** Effects of altering energy and protein supply to dairy cows during the dry period. 1. Intake, body condition, and milk production. *J. Dairy Sci.* 83:1782–1794.
- Díaz, S.M.F. y Padilla, C. 2003.** Alternativas de utilización de leguminosas temporales en el trópico. *En: II foro Latinoamericano de pastos y forrajes.* La Habana, Cuba.
- Elías, A.; Preston, T.R.; Willis, M.B. and Sutherland, T.M. 1968.** Subproductos de la caña y producción intensiva de carne. La ceiba de toros con miel–urea en sustitución del grano en dietas de poca fibra. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 2:59–67.
- Elías, A. 1983.** Digestión de pastos y forrajes tropicales. *En: Los pastos en Cuba.* Tomo 2, Capítulo IV. Ed. EDICA. La Habana, Cuba. 187–246 pp.
- Elías, A. 1988.** Effects of molasses fed with urea or fishmeal on the rumen microbial population and fermentation in early weaned Friesian calves. *Ind. J. Anim. Sci.* 58:366.
- Elías, A.; Lezcano, O.; Lezcano, P.; Cordero, J. y Quintana, L. 1990.** Reseña descriptiva sobre el desarrollo de una tecnología de enriquecimiento proteico en la caña de azúcar mediante fermentación en estado sólido (Saccharina). *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 24:1–12.
- Elías, A. 2000.** Efecto de las fuentes de energía en algunos productos finales de la fermentación ruminal. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 34:31–36.
- Elías, A. 2006.** Efecto de las fuentes de energía sobre las bacterias del rumen. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 40:266.
- Enríquez, Q.J.F.; Meléndez, N.F. y Bolaños, A.E.D. 1999.** Tecnología para la producción y manejos de forrajes tropicales de México. *INIFAP–Produce. Libro técnico No.7.* División pecuaria. México. 263 p.

- Erasmus, L. P., P. M. Botha, C. W. Cruywagen, and H. H. Maissner. 1994.** Amino acid profile and intestinal digestibility in dairy cows of rumen–undegradable protein from various feedstuffs. *J. Dairy Sci.* 77:541–551.
- Erwin, E. S.; Marco, G. J. and Emery, E. M. 1961.** Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44:1768–1776.
- Estrada, J. A. 2002.** Capítulo III. Calidad nutricional de los forrajes. *En: Pastos y forrajes para el trópico colombiano.* Editorial Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. 165–220 pp.
- Fondevila, M. and Dehority, B. A. 1996.** Interactions between *Fibrobacter succinogenes*, *Prevotella ruminicola*, and *Ruminococcus flavefaciens* in the digestion of cellulose from forages. *J. Anim. Sci.* 74:678–684.
- Galindo, J.; Marrero, Y.; González, N. y Sosa, A. 2005.** Manipulación de la fermentación microbiana ruminal. Interactivo en formato digital. Ed. ICA. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba.
- Garcés, Y. P. y Canudas, L. E. 2000.** Potencial de producción de carne en sistemas de pastoreo para el trópico. *En: 2º Simposium internacional sobre bovinos de carne.* Veracruz, México.
- García, E. 1988.** Modificación al sistema de clasificación climática de *Köppen* (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). Instituto de Geografía. UNAM. México, D.F. 33 p.
- Gargallo, S. R. 2006.** Estimación de la degradabilidad ruminal y digestibilidad intestinal de los aminoácidos de suplementos proteicos *in vitro*. Tesis Ph.D. Universidad Autónoma de Barcelona. Depto. de Ciencia Animal y de los Alimentos. Barcelona, España. 231 p.
- Garmendia, J. 2005.** Suplementación estratégica de vacas de doble propósito alrededor del parto. *En: IX Seminario de pastos y forrajes.* Universidad del Zulia – Asociación Venezolana de Producción Animal. San Cristóbal, Venezuela. 112–129 pp.
- González, G. and Rodríguez, A. A. 2003.** Effect of storage method on fermentation characteristics, aerobic stability, and forage intake of tropical grasses ensiled in round bales. *J. Dairy Sci.* 86:926–933.

- Guimarães, S.J.P.; Berchielli, T.T.; Magalhães, A.L.J.; Deresz, F. y Da Silva, V.R. 2001.** Avaliação do uso do óxido crômico para estimativas de digestibilidade, produção fecal e consumo de capim elefante com 30, 45 e 60 dias de idade para vacas em lactação. *En: Memoria de la XVII Reunión de la ALPA.* La Habana, Cuba.
- Hart, K. J.; Yáñez, D. R.; Duval, S. M.; McEwan, N. R. and Newbold, C. J. 2008.** Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147:8–35.
- Hayward, J. 1975.** Análisis de alimentos. Eds. Wintra, A. L. y Winto, K. B. Tomo I. Ed. Pueblo y Educación. 84 p.
- Henderickx, H. K. 1976.** Aspectos cuantitativos del uso del Nitrógeno No-proteico en la alimentación de los rumiantes. *Rev. Cubana Cienc. Agric.* 10:1–19.
- Hess, B.W., Krysl, L.J., Judkins, M.B., Holcombe, D.W., Hess, J.D., Hanks, D.R. and Huber, S.A. 1996.** Supplemental cracked corn or wheat bran for steers grazing endophyte-free fescue pasture: effects on live weight gain, nutrient quality, forage intake, particulate and fluid kinetics, ruminal fermentation, and digestion. *J. Anim. Sci.* 74:1116–1125.
- Hoover, W. H. and S. R. Stokes. 1991.** Balancing carbohydrates and protein for optimum rumen microbial yield. *J. Dairy Sci.* 74:3630–3644.
- Horn, G.W. and McCollum, F.T. 1987.** Energy supplementation of grazing ruminants. *In: M. Judkins (Ed.) Proc. Grazing Livestock Nutrition Conf.* Jackson, WY. 125–136 pp.
- Hristov, A. N. and Ropp, J. K. 2003.** Effect of dietary carbohydrate composition and availability on utilization of ruminal ammonia nitrogen for milk protein synthesis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:2416–2427.
- Julián, M. C. y Ramos, S. L. 2007.** Fermentación en estado sólido. (I) Producción de alimento animal. Universidad de Oriente. Santiago de Cuba. *Tecnología Química* Vol. XXVII. 17–22.
- Kopecny, J. and Wallace, J. R. 1982.** Cellular location and some properties of proteolytic enzymes of rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 43:1026–1033.

- Kristensen, E.S., Moller, P.D. and Hvelplund. 1982.** Estimation of the effective protein degradability in the rumen of cows using the nylon bag technique combined with the out flow rate. *Acta Agric. Escandin.* 32:123.
- Lehninger, A. L. 1991.** Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y función celular. 2ª edición. Ed. Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España. 1117 p.
- Leng, R. A. 1990.** Factors affecting the utilization of ‘poor-quality’ forages by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutr. Research Rev.* 3:277–303.
- Lezcano, O. y Elías, A. 1992.** Efecto de la temperatura y la urea en la fermentación de la caña de azúcar para producir Saccharina. *Rev. Cubana Cienc. Agric.* 26:291–294.
- Macey, R., Oster, G. and Zahnley, T. 2000.** Modeling and analysis of dynamic system. Berkeley Madonna. User guide version 8.0. University of California, Department of Molecular and Cellular Biology, Berkeley, CA. Pag. Web: www.berkeleymadonna.com/
- Mackie, R. I., and B. A. White. 1990.** Recent advances in rumen microbial ecology and metabolism: Potential impact on nutrient output. *J. Dairy Sci.* 73:2971–2995.
- Marinucci, M.T.; Dehority, B. A. and Loerch, S. C. 1992.** *In vitro* and *in vivo* studies of factors affecting digestion of feeds in synthetic fiber bags. *J. Anim. Sci.* 70:296–307.
- Martín, M. P. C. 2004.** La alimentación del ganado con caña de azúcar y sus subproductos. Ed. ICA. La Habana, Cuba. 193 p.
- Mathis, C.P.; Cochran, R. C.; Heldt, J. S.; Woods, B. C.; Abdelgadir, I. E.; Olson, K. C.; Titgemeyer, E. C. and Vanzant, E. S. 2000.** Effects of supplemental degradable intake protein on utilization of medium- to low-quality forages. *J. Anim. Sci.* 78:224–232.
- Matsui, H., Ushida, K., Miyazaki, K. and Kojima, Y. 1998.** Use of ration on digested xylan to digest cellulose (X/C) as an index of fiber digestion in plant cell-wall material by ruminal microorganism. *Anim. Feed Sci. Technol.* 71:207–215.

- McCormick, M. E.; Redfearn, D. D.; Ward, J. D. and Blouin, D. C. 2001.** Effect of protein source and soluble carbohydrate addition on rumen fermentation and lactation performance of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 84:1686–1697.
- McCullough, H. 1967.** The determination of ammonia in whole blood by direct colorimetric method. *Clin. Chem. Acta* 17:297–304.
- McDonald, I. 1981.** A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. *J. Agric. Sci. Camb.* 96:251.
- Mejía-Haro, J., Ruiz-Barrera, O., Jimenez-Castro, J.A. y Mejía-Haro, I. 2003.** Efecto de dos fuentes de proteína de degradabilidad ruminal diferente sobre el crecimiento y procesos digestivos en bovinos productores de carne. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 11(2):102–110.
- Metges, C.C. y Loh G. 2003.** Intestinal microbial amino acid synthesis and its importance for the amino acid homeostasis of the monogastric host. *In: Progress in research on energy and protein metabolism.* EAAP. Publication No. 109. Rostoch–Warnemünde, Germany. 579–592 pp.
- Molina, A. 1990.** Potencial forrajero de la caña de azúcar para la ceba de ganado bovino. Producción de carne en el trópico. ED. ICA. La Habana, Cuba. 225 p.
- Moraes, G.T.C., Boncarrère, S.L.M., Da Rocha, M.G., Dos Santos, D.T., Da Silva, M.J.A., Roman J. y Baptaglin, M.D. 2001.** pH ruminal de bovinos em pastagem de Mileto recebendo ou não suplementação. *En: Memoria de la XVII Reunión de la ALPA.* La Habana, Cuba.
- Morgan, F. 2003.** La pulpa de café enriquecida. Un aporte al desarrollo sostenible en la zona montañosa de Guantánamo. Tesis Ph.D. en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba.
- Mouriño, F.; Akkarawongsa, R. and Weimer, P. J. 2001.** Initial pH as a determinant of cellulose digestion rate by mixed ruminal microorganisms *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 84:848–859.
- Nava C. C. y Díaz C.A. 2001.** Introducción a la digestión ruminal. Departamento de Nutrición Animal. FMVZ–UNAM. *on line* www.fmvz.unam.mx/fmvz/enlinea/Ruminal/digest_ruminal.htm Consulta: Mayo 2008.

- Nocek, J. E. 1987.** Characterization of *in situ* dry matter and nitrogen digestion of various corn grain forms. *J. Dairy Sci.* 70:2291–2301.
- Nocek, J. E. and Grant, A. L. 1987.** Characterization of *in situ* nitrogen and fiber digestion and bacterial nitrogen contamination of hay crop forages preserved at different dry matter percentages. *J. Anim. Sci.* 64:552–564.
- Nocek, J. E. and Russell, J. B. 1988.** Protein and energy as an integrated system, relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *J. Dairy Sci.* 71:2070–2107.
- Nocek, J. E. and Tamminga, S. 1991.** Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* 74:3598–3629.
- Nocek, J. E. 1997.** Bovine acidosis: Implications on laminitis. *J. Dairy Sci.* 80:1005–1028.
- N.R.C. (National Research Council). 2001.** Nutrient requirements of dairy cattle. (7th rev.) Ed. National Academies Press, Washington, DC.
- Oba, M. and Allen, M.S. 2003.** Effects of diet fermentability on efficiency of microbial nitrogen production in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:195–207.
- Obispo, E. N. 2005.** El uso de las fuentes de nitrógeno no proteico en rumiantes. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. UCV. *CENIAP HOY* No. 8. Maracay, Venezuela. 7 p.
- Olubobokun, J. A.; Craig, W. M. and Pond K. R. 1990.** Effects of mastication and microbial contamination on ruminal *in situ* forage disappearance. *J. Anim. Sci.* 68:3371–3381.
- Ørskov, E. R. and McDonald, I. 1979.** The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci. Camb.* 92:499–503.
- Ørskov, E. R.; Hovell, DeB F. D. and Mould, F. 1980.** The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Trop. Anim. Prod.* 5(3):195–213.
- Ortega, C. Ma. E. y Carranco, J. Ma. E. 1993.** Factores que afectan la digestibilidad *in situ* de los alimentos en el rumen. FMVZ–UNAM. *Vet. Méx.* 24(1):55–60.

- Paster, B. J.; Russell, J. B.; Yang, C. M.; Chow, J. M.; Woese, C. R. and Tanner, R. 1993.** Phylogeny of the ammonia-producing ruminal bacteria *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium sticklandii* and *Clostridium aminophilum* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 43:107–110.
- Perafán, F. 2007.** La Caña de azúcar. *on line:* www.perafan.com/. Cali, Colombia. Consulta: Abril del 2008.
- Pérez, P.J., Alarcón, Z.B., Mendoza, M.G., Bárcena, G.R., Hernández, G.A. y Herrera, H.J. 2001.** Efecto de un banco de proteína de Kutzú en la ganancia de peso de toretes en pastoreo de estrella africana. *Tec. Pecu. Mex.* 39(1):39–52.
- Peruchena, C. O. 1999.** Suplementación de bovinos para carne sobre pasturas tropicales. Aspectos nutricionales, productivos y económicos. XXXVI Congreso anual de sociedad brasileira de zootecnia, Porto Alegre, Brasil. 199–212 pp.
- Peruchena, C. O. 2004.** Suplementación de bovinos para carne sobre pasturas tropicales. Aspectos nutricionales, reproductivos y económicos. *on line:* www.portalveterinaria.com/sections.php?op=viewarticle&artid=291 Consulta: Mayo del 2008.
- Pineda, J. L. 2004.** Efecto de un suplemento activador proteico o energético de la fermentación ruminal en la engorda de bovinos en praderas de pastos tropicales en colima. Tesis Ph.D. Universidad de Colima. Postgrado interinstitucional en ciencias pecuarias. México. 131 p.
- Preston, T. R. y Leng, R. A. 1989.** Ajustando los sistemas de producción pecuaria a los recursos disponibles: Aspectos básicos y aplicados del nuevo enfoque sobre la nutrición de rumiantes en el trópico. Ed. CONDRIT. Cali, Colombia. 1184–192 pp.
- Ramírez, L. 2003.** Fermentaciones aplicadas a la industria de alimentos. Universidad del Valle, contribución a la II muestra agroindustrial, Universidad del Cauca, facultad de ciencias agropecuarias, Popayán pp 49.
- Ramos, J. A., G. D. Mendoza M., E. Aranda I., C. García-Bojalil, R. Bárcena G. and J. Alanís R. 1998.** Escape protein supplementation of growing steers grazing stargrass. *Anim. Feed Sci. Technol.* 70:249–256.

- Ramos, J. A. 2005.** Obtención de un concentrado energético–proteínico por fermentación en estado sólido de la caña de azúcar para bovinos en ceba. Tesis Ph.D. Instituto de Ciencia Animal. Depto. Ciencias Biofisiológicas. La Habana, Cuba. 72–88 pp.
- Ramos, J. A.; Elías, A. y Herrera, F. 2006.** Procesos para la producción de un alimento energético–proteico para animales. Efecto de cuatro fuentes energéticas en la fermentación en estado sólido (FES) de la Caña de azúcar. *Rev. Cubana Cienc. Agric.* 40(1):51–58.
- Ramos, J. A., Elías, A., Herrera, F., Aranda, E. y Mendoza, M. G. 2007.** Processes for the production of an energetic–proteinic animal feed. Effect of final molasses levels on the solid state fermentation of saccha–sorghum and saccha–polishing. *Cuban J. Agric. Sci.* 41:2.
- Rodríguez–Carrasquel, S. 1983.** Pasto Elefante (*Pennisetum purpureum*, Schumacher), originario de África. *FONAIAP–Divulga* No. 12. Venezuela. *On line:* <http://ceniap.gov.ve/pbd/RevistasTecnicas/FonaiapDivulga/fd12/texto/pasto%20elefante.htm> Consulta: Julio del 2008.
- Román, P.H. 1995.** Situación actual y retos de la ganadería bovina en el trópico. XX Simposium de ganadería tropical. Memoria técnica # 2. *INIFAP–CIRGOC*.
- Rosario, M. I. 2005.** Efectos de la calidad del forraje y el tipo de concentrado sobre el consumo voluntario y producción de leche en vacas lecheras. Tesis M.Sc. Universidad de Puerto Rico. Postgrado en Industria Pecuaria. Mayagüez. 74 p.
- Ruiz, R. y Ayala, R. 1987.** Digestión y absorción de compuestos nitrogenados en el rumen. *En:* Bioquímica nutricional. Fisiología digestiva y metabolismo intermediario en animales de granja. Ed. MES. ICA, La Habana, Cuba. 189–233 pp.
- Ruiz, T.E. Febles, G. y Alonso, J. 2003.** Potencial para la producción de biomasa en sistemas con leguminosas perenne. *En:* II Foro Latinoamericano de pastos y forrajes. La Habana, Cuba.
- Russell, J. B., J. D. O’Connor, D. G. Fox, Van Soest, P. J. and C.J. Sniffen. 1992.** A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. *J. Anim. Sci.* 70:3551–3561.

- Russell, J. B. and Wilson, D. B. 1996.** Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? *J. Dairy Sci.* 79:1503–1509.
- Sancho, R. 2004.** V Iberoamericano de indicadores de ciencia y tecnología. Iberoamericana/Interamericano. Buenos Aires, Argentina.
- SAS (Statistical Analysis System) 2003.** SAS/STAT User guide: Statistics, version 9th edition. SAS Institute Inc. Cary, North Carolina. USA.
- Tukey, J.W. 1953.** The problem of multiple comparison. Ditto, Princeton University, Princeton, N.J.
- Valdés, G., Elías, A. y Castillo, F. 1994.** Una nota sobre la suplementación de Saccharina rústica en la ceba de machos bovinos en pastoreo. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 28:285–288.
- Valenciaga, D.; Chongo, B. y LaO, O. 2001.** Caracterización del clon *Pennisetum* CUBA CT-115. Composición química y degradabilidad ruminal de la materia seca. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 35(4):349–354.
- Valiño, E., Elías, A., Álvarez, E. Quintana, M. y Montes de Oca, N. 1994a.** Composición de especies de bacterias aisladas del proceso de obtención de la Saccharina. I. Bacterias gram negativas. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 28:69–74.
- Valiño, E., Elías, A., Álvarez, E. Quintana, M. y Montes de Oca, N. 1994b.** Composición de especies de bacterias aisladas del proceso de obtención de la Saccharina. II. Bacterias gram positivas. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 28:75–80.
- Van Soest, P. J.; Robertson, J. B. and Lewis, B. A. 1991.** Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583–3597.
- Vergara-López J.; Rodríguez-Petit, A.; Navarro, C. y Atencio, A. 2006.** Efecto de la suplementación con *Leucaena* (*Leucaena leucocephala* Lam. De Wit) sobre la degradabilidad ruminal del pasto Alemán (*Echinochloa polystachya* H.B.K. Hitch). *Revista científica, FCV-LUZ* 16:6, 642–647.
- Wallace, R. J. 1985.** Absorption of soluble proteins to rumen bacteria and the role of absorption in proteolysis. *Br. J. Nutr.* 53: 399–408.

Wallace, R. J. 1996. Ruminal microbial metabolism of peptides and amino acids. *J. Nutr.* 126:1326S–1334S.

Weimer, P. J. 1996. Why don't ruminal bacteria digest cellulose faster? *J. Dairy Sci.* 79:1496–1502.

Wilson, J.R. 1994. Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. *J. Agric. Sci. Camb.* 122:173–182.

X. ANEXOS

Anexo 1. Efecto del Sacchapulido con niveles de urea sobre el potencial de iones Hidrogeno (pH) ruminal

| Tratamientos | Horas después de la suplementación | | | | | |
|--------------------|------------------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 12 | 24 |
| Solo Forraje | 6.86 ^a | 6.80 ^a | 6.64 ^a | 6.70 ^a | 6.74 ^a | 6.80 ^a |
| F + SP con 0.5 % U | 6.60 ^a | 6.50 ^a | 6.42 ^a | 6.22 ^{ab} | 6.42 ^a | 6.52 ^a |
| F + SP con 1.0 % U | 6.56 ^a | 6.34 ^a | 6.30 ^a | 6.20 ^b | 6.34 ^a | 6.58 ^a |
| F + SP con 1.5 % U | 6.78 ^a | 6.52 ^a | 6.44 ^a | 6.24 ^{ab} | 6.24 ^a | 6.66 ^a |
| F + SP con 2.0 % U | 6.80 ^a | 6.66 ^a | 6.54 ^a | 6.38 ^{ab} | 6.28 ^a | 6.80 ^a |
| EE± | 0.09NS | 0.06NS | 0.06NS | 0.06* | 0.08NS | 0.09NS |

F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma columna indican diferencias (Tukey, P<0.05).

*P<0.05, NS: No Significativo.

Anexo 2. Efecto del Sacchapulido con niveles de urea sobre el nitrógeno amoniacal (N-NH₃) ruminal (mg dL⁻¹)

| Tratamientos | Horas después de la suplementación | | | | | |
|--------------------|------------------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 12 | 24 |
| Solo Forraje | 4.98 ^a | 8.59 ^c | 7.23 ^c | 5.52 ^c | 5.65 ^b | 5.00 ^a |
| F + SP con 0.5 % U | 5.33 ^a | 9.00 ^b | 8.73 ^{bc} | 7.85 ^b | 6.38 ^b | 5.37 ^a |
| F + SP con 1.0 % U | 5.89 ^a | 10.39 ^b | 9.05 ^b | 7.27 ^b | 5.44 ^b | 5.91 ^a |
| F + SP con 1.5 % U | 6.05 ^a | 13.54 ^a | 13.00 ^a | 9.04 ^a | 8.02 ^a | 6.03 ^a |
| F + SP con 2.0 % U | 5.76 ^a | 14.69 ^a | 12.54 ^a | 9.95 ^a | 7.87 ^a | 6.12 ^a |
| EE± | 0.13NS | 0.22*** | 0.17*** | 0.13*** | 0.11*** | 0.14NS |

F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma columna indican diferencias (Tukey, P<0.05).

***P<0.001, NS: No Significativo.

Anexo 3. Digestibilidad *in situ* de la materia seca del forraje Elefante y del Sacchapulido con niveles de urea en los diferentes horarios

| Tratamientos | Horas de incubación | | | | | | | |
|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| | 2 | 4 | 6 | 12 | 24 | 48 | 72 | 96 |
| Solo Forraje | 12.90 ^{bc} | 24.50 ^d | 28.83 ^d | 31.00 ^c | 38.74 ^c | 45.43 ^c | 50.50 ^b | 50.05 ^b |
| F + SP con 0.5 % U | 12.49 ^c | 28.16 ^c | 32.74 ^{cd} | 36.47 ^b | 57.63 ^b | 61.32 ^{ab} | 61.78 ^a | 61.18 ^a |
| F + SP con 1.0 % U | 13.01 ^{bc} | 32.24 ^b | 36.04 ^c | 35.55 ^{bc} | 56.51 ^b | 61.45 ^{ab} | 59.32 ^a | 61.32 ^a |
| F + SP con 1.5 % U | 24.48 ^a | 44.04 ^a | 45.64 ^b | 51.55 ^a | 59.09 ^b | 59.45 ^b | 61.92 ^a | 60.10 ^{ab} |
| F + SP con 2.0 % U | 15.80 ^b | 35.20 ^b | 53.23 ^a | 56.02 ^a | 62.46 ^a | 64.09 ^a | 65.16 ^a | 63.46 ^a |
| EE± | 0.39*** | 0.45*** | 0.60*** | 0.67*** | 0.34*** | 0.52*** | 1.03*** | 1.37** |

F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma columna indican diferencias (Tukey, P<0.05).

P<0.01, *P<0.001.

Anexo 4. Digestibilidad *in situ* de la materia orgánica del forraje Elefante y del Sacchapulido con niveles de urea en los diferentes horarios

| Tratamientos | Horas de incubación | | | | | | | |
|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| | 2 | 4 | 6 | 12 | 24 | 48 | 72 | 96 |
| Solo Forraje | 11.75 ^{bc} | 21.41 ^d | 25.82 ^d | 27.63 ^d | 34.24 ^d | 39.77 ^c | 43.19 ^b | 44.33 ^b |
| F + SP con 0.5 % U | 11.16 ^c | 25.13 ^c | 29.24 ^c | 32.31 ^c | 50.91 ^{bc} | 53.54 ^{ab} | 52.84 ^a | 54.31 ^a |
| F + SP con 1.0 % U | 11.17 ^c | 28.38 ^b | 31.77 ^c | 31.16 ^c | 49.56 ^c | 53.50 ^{ab} | 51.35 ^a | 53.19 ^a |
| F + SP con 1.5 % U | 21.32 ^a | 38.65 ^a | 40.33 ^b | 45.08 ^b | 51.63 ^b | 52.02 ^b | 54.13 ^a | 51.89 ^a |
| F + SP con 2.0 % U | 13.79 ^b | 30.71 ^b | 47.92 ^a | 50.51 ^a | 54.58 ^a | 55.40 ^a | 55.01 ^a | 54.02 ^a |
| EE± | 0.31*** | 0.38*** | 0.38*** | 0.33*** | 0.23*** | 0.41*** | 0.53*** | 0.74*** |

F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma columna indican diferencias (Tukey, P<0.05).

***P<0.001.

Anexo 5. Digestibilidad *in situ* de la fibra detergente neutro del forraje Elefante y del Sacchapulido con niveles de urea en los diferentes horarios

| Tratamientos | Horas de incubación | | | | | | | |
|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | 2 | 4 | 6 | 12 | 24 | 48 | 72 | 96 |
| Solo Forraje | 4.84 ^d | 11.32 ^c | 14.38 ^c | 17.96 ^c | 21.40 ^d | 23.99 ^d | 25.84 ^c | 28.72 ^c |
| F + SP con 0.5 % U | 6.40 ^b | 24.20 ^b | 33.50 ^b | 40.71 ^d | 41.42 ^c | 42.50 ^c | 48.99 ^b | 48.31 ^b |
| F + SP con 1.0 % U | 4.97 ^{cd} | 30.03 ^a | 40.15 ^a | 43.79 ^c | 47.07 ^b | 52.09 ^b | 55.88 ^b | 57.32 ^b |
| F + SP con 1.5 % U | 6.33 ^{bc} | 29.89 ^a | 42.57 ^a | 55.78 ^a | 59.07 ^a | 63.70 ^a | 68.52 ^a | 72.08 ^a |
| F + SP con 2.0 % U | 15.21 ^a | 32.40 ^a | 45.56 ^a | 53.74 ^b | 57.08 ^a | 65.91 ^a | 69.29 ^a | 73.11 ^a |
| EE± | 0.10*** | 0.42*** | 0.46*** | 0.14*** | 0.38*** | 0.41*** | 0.62*** | 0.68*** |

F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma columna indican diferencias (Tukey, P<0.05).

***P<0.001.

Anexo 6. Digestibilidad *in situ* de la fibra detergente ácido del forraje Elefante y del Sacchapulido con niveles de urea en los diferentes horarios

| Tratamientos | Horas de incubación | | | | | | | |
|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| | 2 | 4 | 6 | 12 | 24 | 48 | 72 | 96 |
| Solo Forraje | 3.45 ^b | 4.92 ^c | 5.50 ^b | 6.14 ^c | 7.25 ^c | 8.68 ^c | 10.04 ^c | 11.56 ^b |
| F + SP con 0.5 % U | 8.97 ^a | 10.95 ^b | 17.02 ^a | 26.64 ^a | 30.53 ^{ab} | 34.36 ^b | 39.66 ^b | 57.45 ^a |
| F + SP con 1.0 % U | 11.26 ^a | 16.24 ^a | 19.00 ^a | 26.51 ^a | 27.29 ^b | 35.94 ^b | 43.43 ^{ab} | 56.43 ^a |
| F + SP con 1.5 % U | 10.93 ^a | 15.61 ^a | 19.00 ^a | 25.51 ^a | 27.29 ^b | 33.57 ^b | 43.44 ^{ab} | 56.43 ^a |
| F + SP con 2.0 % U | 9.20 ^a | 10.84 ^b | 15.98 ^a | 16.59 ^b | 32.34 ^a | 45.64 ^a | 46.39 ^a | 58.80 ^a |
| EE± | 0.17*** | 0.15*** | 0.29*** | 0.21*** | 0.26*** | 0.29*** | 0.45*** | 0.25*** |

F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma columna indican diferencias (Tukey, P<0.05).

***P<0.001.

Anexo 7. Efecto de niveles de urea en el Sacchapulido sobre la digestibilidad *in situ* de la materia seca del pasto Elefante en los diferentes horarios

| Tratamientos | Horas de incubación | | | | | | | |
|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | 2 | 4 | 6 | 12 | 24 | 48 | 72 | 96 |
| Solo Forraje | 12.88 ^c | 24.59 ^c | 28.83 ^c | 31.00 ^b | 38.74 ^c | 45.43 ^b | 50.50 ^b | 50.05 ^b |
| F + SP con 0.5 % U | 17.89 ^c | 26.96 ^b | 31.52 ^b | 35.68 ^a | 51.48 ^a | 61.37 ^a | 64.42 ^a | 62.57 ^a |
| F + SP con 1.0 % U | 14.73 ^d | 29.06 ^a | 28.74 ^c | 35.48 ^a | 50.27 ^a | 57.84 ^a | 59.11 ^a | 59.93 ^a |
| F + SP con 1.5 % U | 25.84 ^a | 29.12 ^a | 33.49 ^a | 36.57 ^a | 52.04 ^a | 58.32 ^a | 61.23 ^a | 60.13 ^a |
| F + SP con 2.0 % U | 21.86 ^b | 26.47 ^b | 27.84 ^c | 34.39 ^a | 43.68 ^b | 58.88 ^a | 61.69 ^a | 60.36 ^a |
| EE± | 0.19*** | 0.21*** | 0.20*** | 0.34*** | 0.26*** | 0.54*** | 0.81*** | 0.81*** |

F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma columna indican diferencias (Tukey, P<0.05).

***P<0.001.

Anexo 8. Efecto de niveles de urea en el Sacchapulido sobre la digestibilidad *in situ* de la materia orgánica del pasto Elefante en los diferentes horarios

| Tratamientos | Horas de incubación | | | | | | | |
|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|
| | 2 | 4 | 6 | 12 | 24 | 48 | 72 | 96 |
| Solo Forraje | 11.76 ^c | 21.41 ^c | 25.82 ^c | 27.63 ^c | 34.24 ^d | 39.77 ^c | 43.19 ^c | 44.34 ^b |
| F + SP con 0.5 % U | 16.43 ^c | 24.81 ^b | 28.77 ^b | 32.67 ^{ab} | 46.62 ^a | 54.47 ^a | 56.75 ^a | 55.14 ^a |
| F + SP con 1.0 % U | 13.22 ^d | 26.33 ^a | 26.00 ^c | 32.14 ^{ab} | 44.74 ^b | 51.49 ^b | 52.01 ^b | 52.62 ^a |
| F + SP con 1.5 % U | 23.31 ^a | 26.22 ^a | 30.37 ^a | 32.90 ^a | 46.09 ^a | 52.27 ^{ab} | 54.50 ^{ab} | 52.61 ^a |
| F + SP con 2.0 % U | 19.75 ^b | 23.63 ^b | 25.02 ^c | 30.55 ^b | 38.58 ^c | 51.83 ^b | 53.00 ^b | 52.43 ^a |
| EE± | 0.17*** | 0.18*** | 0.18*** | 0.30*** | 0.13*** | 0.30*** | 0.40*** | 0.60*** |

F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma columna indican diferencias (Tukey, P<0.05).

***P<0.001.

Anexo 9. Efecto de niveles de urea en el Sacchapulido sobre la digestibilidad *in situ* de la fibra detergente neutro del pasto Elefante en los diferentes horarios

| Tratamientos | Horas de incubación | | | | | | | |
|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | 2 | 4 | 6 | 12 | 24 | 48 | 72 | 96 |
| Solo Forraje | 4.63 ^b | 11.22 ^c | 13.88 ^b | 17.53 ^c | 20.97 ^c | 24.86 ^c | 26.07 ^c | 27.69 ^c |
| F + SP con 0.5 % U | 8.88 ^{ab} | 16.59 ^a | 20.43 ^a | 24.35 ^b | 28.48 ^b | 30.77 ^b | 32.68 ^b | 34.29 ^b |
| F + SP con 1.0 % U | 8.92 ^{ab} | 15.53 ^{ab} | 20.05 ^a | 24.92 ^{ab} | 29.97 ^b | 31.68 ^b | 33.88 ^b | 36.43 ^b |
| F + SP con 1.5 % U | 6.09 ^{ab} | 12.38 ^{bc} | 18.67 ^a | 24.20 ^b | 30.45 ^b | 33.61 ^b | 35.38 ^b | 36.63 ^b |
| F + SP con 2.0 % U | 9.24 ^a | 16.10 ^{ab} | 20.58 ^a | 27.99 ^a | 34.13 ^a | 37.07 ^a | 39.77 ^a | 40.26 ^a |
| EE± | 0.22* | 0.20** | 0.15*** | 0.18*** | 0.15*** | 0.15*** | 0.17*** | 0.12*** |

F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma columna indican diferencias (Tukey, P<0.05).

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

Anexo 10. Efecto de niveles de urea en el Sacchapulido sobre la digestibilidad *in situ* de la fibra detergente ácido del pasto Elefante en los diferentes horarios

| Tratamientos | Horas de incubación | | | | | | | |
|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| | 2 | 4 | 6 | 12 | 24 | 48 | 72 | 96 |
| Solo Forraje | 3.66 ^a | 4.53 ^a | 5.51 ^b | 6.34 ^c | 7.38 ^b | 8.38 ^d | 10.39 ^d | 12.14 ^d |
| F + SP con 0.5 % U | 5.19 ^a | 7.45 ^a | 17.33 ^a | 21.01 ^{ab} | 23.38 ^a | 25.82 ^c | 27.05 ^c | 25.91 ^c |
| F + SP con 1.0 % U | 7.10 ^a | 9.48 ^a | 16.11 ^a | 17.84 ^b | 19.38 ^a | 31.69 ^b | 34.49 ^b | 37.16 ^{ab} |
| F + SP con 1.5 % U | 6.82 ^a | 12.19 ^a | 19.43 ^a | 26.69 ^a | 29.53 ^a | 36.69 ^a | 39.33 ^a | 42.69 ^a |
| F + SP con 2.0 % U | 6.63 ^a | 9.97 ^a | 16.36 ^a | 18.43 ^b | 21.24 ^a | 27.57 ^{bc} | 29.35 ^c | 34.80 ^b |
| EE± | 0.34NS | 0.42NS | 0.51** | 0.34*** | 0.61*** | 0.22*** | 0.16*** | 0.36*** |

F: Forraje Elefante, SP: Sacchapulido, U: Urea.

^{a, b}: Medias con distinta literal en la misma columna indican diferencias (Tukey, P<0.05).

P<0.01, *P<0.001, NS: No Significativo.