



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

Efecto del cromo y selenio quelados en la degradación y fermentación ruminal en dietas para novillos en finalización

Adan Ulises Chávez Solis

T E S I S

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

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2012

La presente tesis titulada **EFFECTO DEL CROMO Y SELENIO QUELADOS EN LA DIGESTIBILIDAD Y FERMENTACIÓN RUMINAL EN DIETAS PARA NOVILLOS EN FINALIZACIÓN**, realizada por el alumno: Adan Ulises Chávez Solis bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

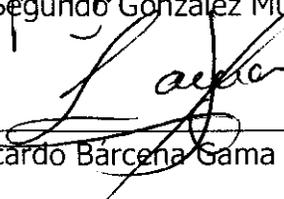
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



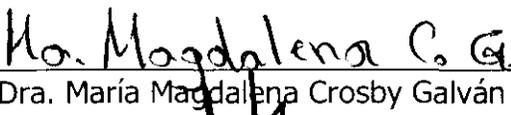
Dr. Sergio Segundo González Muñoz

ASESOR



Dr. José Ricardo Bárcena Gama

ASESOR



Dra. María Magdalena Crosby Galván

ASESOR



MC. Buenaventura Reyes Chacon

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Noviembre del 2012

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y al Colegio de Postgraduados por darme la oportunidad y permitirme realizar mis estudios de posgrado.

A mis Padres y familiares por su apoyo y fe en mí.

Al Dr. Sergio S González Muñoz, por su apoyo, dedicación y esmero para mi formación profesional, elaboración de la presente tesis y por su amistad y consejo para mi persona.

Al Dr. Ricardo Bárcena Gama, por su apoyo, dedicación y esmero para mi formación profesional, elaboración de la presente tesis y por su amistad y consejo para mi persona.

A la Dra. Magdalena Crosby Galván, por las enseñanzas, la disposición y paciencia, así como las aportaciones a este trabajo y por su amistad.

Al MC. Buenaventura Reyes Chacon, por sus enseñanzas, paciencia, amistad y aportaciones para este trabajo

A los Dr. Mario A. Cobos Peralta, por facilitar el trabajo en laboratorio y por su amistad.

Al Dr. David Hernández Sánchez, por su amistad y apoyo.

Al Dr. José G. Herrera Haro por su apoyo, enseñanza y amistad.

A la empresa Biotecap, por proporcionar el material mineral para esta investigación.

A mis compañeros y amigos que me ayudaron, apoyaron y motivaron durante la realización de mi investigación.

DEDICATORIA

De manera personal y con todo mi cariño admiración y respeto, dedico el presente trabajo a las personas que son más importantes en mi vida y que han estado conmigo en todo momento.

A mis Padres Feliciano Chávez Longoria y Lidia Solis, por darme la vida apoyarme y alentarme en todo momento por su fe y amor incondicional.

A mis hermanos Aarón, Yuritza, J. Feliciano y Blanca, por la satisfacción y dicha de tenerlos como familia y su apoyo y cariño incondicional.

A Claudia M. Sosa H., por estar conmigo y apoyarme, por formar parte de mi mundo, y darme la fuerza y motivación para salir adelante.

A mis Abuelos Feliciano Chávez G.†, Anastasia Longoria† y Teresa Solis, por su apoyo y cariño incondicional.

A mis amigos (as), que forman parte de mi vida y me han apoyado en diversas circunstancias.

*"La diferencia entre el maestro y el discípulo es sólo una:
el primero tiene menos miedo que el segundo"*

Paulo Coelho
La Bruja de Portobello

Índice General

Contenido	Página
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
SUMMARY	xi
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Antecedentes	3
Producción de carne bovina en el mundo:	3
Producción de carne bovina en México:	4
Nutrición y alimentación de bovinos:	5
Los minerales en la nutrición de bovinos:.....	7
Importancia del selenio y del cromo	8
El selenio	8
Requerimientos, deficiencia y toxicidad del selenio	9
Funciones fisiológicas.....	10
Metabolismo de selenio	11
El cromo.....	12
Requerimientos, deficiencia y toxicidad del como	13
Funciones fisiológicas.....	14
Metabolismo de cromo	15
JUSTIFICACIÓN	16
HIPÓTESIS	16
OBJETIVOS GENERALES	16
MATERIALES Y MÉTODOS	17
Localización.....	17
Animales.....	17
Dietas experimentales	18
Degradación <i>in situ</i>	20

Determinación de pH, AGV y N-NH ₃ en el líquido ruminal.....	21
Diseño experimental y análisis estadístico.....	22
Degradación <i>in vitro</i>	22
Diseño experimental y análisis estadístico.....	23
RESULTADOS	24
Degradación <i>in situ</i> de la materia seca (DISMS)	24
Degradación <i>in situ</i> de la fibra detergente neutro (DISFDN).....	25
Degradación <i>in situ</i> de la fibra detergente ácido (DISFDA)	27
Degradación <i>in situ</i> de la proteína cruda (DISPC)	28
Concentración de N-NH ₃ , AGV y pH	30
Degradación <i>in vitro</i> de la materia seca (DIVMS).....	31
Degradación <i>in vitro</i> de la proteína cruda (DIVPC)	32
Concentración de N-NH ₃ , AGV y pH	33
DISCUSIÓN	33
CONCLUSIONES	38
LITERATURA CITADA	39

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Contenido	Página
1	Composición de las dietas experimentales.....	19
2	Composición química de las dietas experimentales.....	19
3	Degradación <i>in situ</i> de la materia seca de las dietas experimentales.....	24
4	Degradación <i>in situ</i> de la FDN de las dietas experimentales..	26
5	Degradación <i>in situ</i> de la FDA de las dietas experimentales..	27
6	Degradación <i>in situ</i> de la proteína de las dietas experimentales.....	29
7	Concentración <i>in situ</i> de N-NH ₃ , AGV y pH en líquido ruminal.....	30
8	Degradación <i>in vitro</i> de la materia seca de las dietas experimentales.....	31
9	Degradación <i>in vitro</i> de la proteína de las dietas experimentales.....	32
10	Concentración <i>in vitro</i> de N-NH ₃ y AGV en líquido ruminal....	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Producción de carne bovina mundial.....	4
2	El sistema digestivo de una vaca.....	6
3	Comportamiento de la DISMS de los tratamientos.....	25
4	Comportamiento de la DISFDN de los tratamientos....	26
5	Comportamiento de la DISFDA de los tratamientos....	28
6	Comportamiento de la DISPC de los tratamientos.....	29

EFFECTO DEL CROMO Y SELENIO QUELADOS EN LA DEGRADACIÓN Y FERMENTACIÓN RUMINAL EN DIETAS PARA NOVILLOS EN FINALIZACIÓN

Adan Ulises Chávez Solis

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del selenio y cromo quelados con levaduras atenuadas de *Saccharomyces cerevisiae*, sobre la degradación *in situ* e *in vitro* de la MS, FDN, FDA y PC de la dieta, y en las variables de fermentación ruminal pH, AGV y N-NH₃ en novillos alimentados con una dieta de finalización. Los tratamientos fueron: 1) dieta base (DB); 2) DB + Se-quelado; 3) DB + Cr-quelado y 4) DB + Se + Cr quelados. Los tratamientos fueron asignados al azar a 4 novillos Holstein (450 kg PV) provisto con cánula ruminal permanente y el diseño experimental fue un Cuadro Latino 4 x 4. Los mismos tratamientos fueron evaluados *in vitro* y el diseño experimental fue de bloques al azar con repeticiones en el tiempo. En ambos experimentos los datos obtenidos fueron analizados con el procedimiento GLM de SAS y medias de tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). La degradación *in situ* de MS (DISMS), FDN (DISFDN) y FDA (DISFDA) fue mayor ($P \leq 0.05$) en los tratamientos con Se y Cr, y Se + Cr quelados con respecto al testigo. No hubo diferencias ($P > 0.05$) entre tratamientos en la degradación *in vitro* de la MS, FDN y FDA ni en los valores de pH, AGV y N-NH₃. La adición de Se o Cr quelados con levaduras de *Saccharomyces cerevisiae* incrementan la degradabilidad de la MS, FDN y FDA, pero no la de la PC ni los valores de pH y concentración de AGV y N-NH₃.

SUMMARY

The objective of this research was to evaluate the effects of selenium (Se) and chromium (Cr) chelated with *Saccharomyces cerevisiae* attenuated yeasts on *in vitro* and *in situ* of DM, NDF, ADF and CP degradation, and on ruminal fermentation variables; pH VFA and NH₃-N on steers fed a finishing diet. Treatments were: 1) basal diet (BD); 2) BD + chelated Se; 3) BD + chelated Cr and 4) BD + Se + Cr chelated. Treatments were randomly assigned to 4 Holstein steers (450 Kg LW) following a 4 x 4 Latin square experimental design. The same treatments were evaluated *in vitro* and the experimental design was randomized blocks with repetitions on time. Data gathered from both experiments were analyzed by GLM procedure (SAS) and treatments means were compared using Tukey test ($p \leq 0.05$). DM (DNISD), NDF (NDFISD), and ADF (ADFISD) *in situ* degradation was higher ($p \leq 0.05$) in Se, Cr y Se + Cr chelated treatments compared to control. There were no differences on *in vitro* degradation of DM, NDF and ADF, but pH, VFA and N-NH₃ values did not change. Supplementation with chelated Se or Cr with *Saccharomyces cerevisiae* yeasts increased DM, NDF and ADF but not CP or pH values and VFA and N-NH₃ concentration.

INTRODUCCIÓN

En los sistemas de producción de carne bovina se deben considerar factores sociales y económicos, los cuales afectan la rentabilidad del sistema. La alimentación de los bovinos representa hasta el 80 % de los costos de producción; por lo tanto, el manejo nutricional es el factor más importante para lograr un sistema de producción eficiente y rentable. En consecuencia, todos los nutrimentos (carbohidratos, proteínas, lípidos, vitaminas y minerales) requeridos deben estar en la dieta en las cantidades necesarias para satisfacer las necesidades del bovino mediante un consumo, digestión y metabolismo adecuados en el organismo animal.

Los minerales constituyen entre 4 a 5 % del peso vivo de un bovino, son esenciales para la vida y salud, cumplen una función importante en la nutrición porque son indispensables para la utilización de los nutrientes energéticos y para la síntesis de metabolitos y componentes celulares para el organismo. Por lo tanto la ocurrencia de deficiencias como excesos ocasiona problemas en el organismo y puedan causar, en casos extremos, la muerte de los animales.

Los suplementos minerales son importantes y necesarios en las dietas para la producción de bovinos para carne debido a que las fuentes naturales (alimentos y agua) generalmente no satisfacen los requerimientos de los animales, en relación con su potencial de producción. Sin embargo, los productores, generalmente no conceden o ignoran la importancia de los suplementos minerales y específicamente los microminerales los cuales se requieren para el crecimiento y desarrollo de los bovinos.

La adición de suplementos minerales a las dietas se lleva a cabo utilizando fuentes orgánicas o inorgánicas. Los minerales orgánicos o quelados están ligados a una fracción orgánica, generalmente a una proteína o aminoácido, con la cual se generan algunas ventajas, como su mejor absorción, se mantienen solubles en todo el tubo digestivo y disminuyen riesgos de interacciones negativas con otros minerales, en comparación con las fuentes inorgánicas.

El cromo (Cr) y el selenio (Se) son dos microminerales esenciales para los rumiantes debido a sus funciones fisiológicas en el metabolismo de los animales. El Se forma parte de la enzima glutatión peroxidasa que cataboliza los peróxidos y mantiene la integridad de las membranas celulares y, sin esta eliminación, las células musculares, pancreáticas y hepáticas y los glóbulos rojos de la sangre serían destruidos. El Cr está relacionado con la función fisiológica de la insulina y utilización de la glucosa, así como con el metabolismo de carbohidratos y grasas.

La literatura científica enmarca la esencialidad de estos microminerales en su actividad metabólica en el animal; sin embargo, es importante también evaluar el efecto de su adición a la dieta sobre el consumo y degradabilidad del alimento en el rumen y las posibles alteraciones en el patrón de fermentación ruminal, pues estos procesos afectan directamente el comportamiento productivo de los bovinos. Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto del Se y Cr quelados y de una levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre la Degradación y fermentación ruminal en dietas para novillos en finalización.

REVISIÓN DE LITERATURA

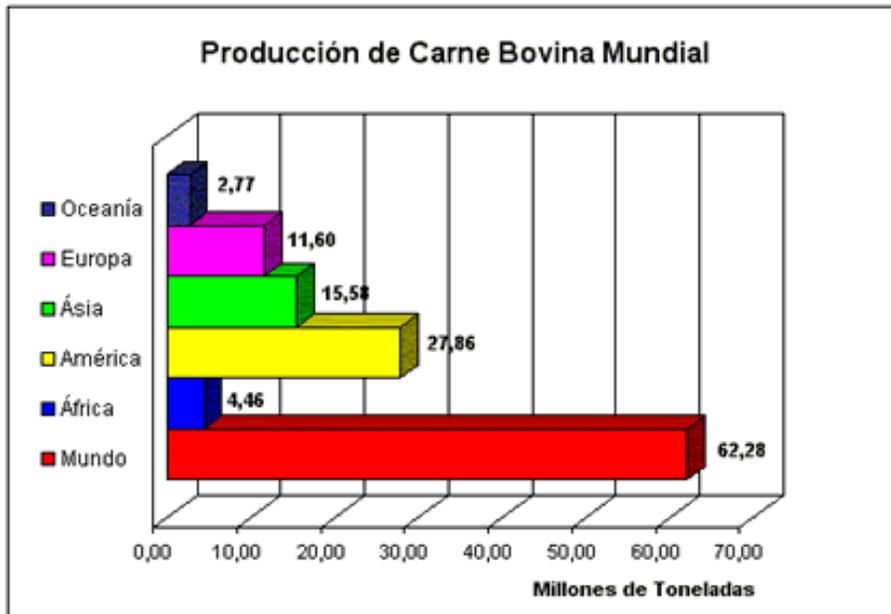
Antecedentes

Producción de carne bovina en el mundo:

Desde hace cinco años la producción mundial de carne bovina ha mostrado una tendencia al alza. En el año 2004 creció cerca de 0.7 %, principalmente a causa de aumentos en la producción en China y América del Sur (Brasil). Por su parte, la producción en EE.UU. se redujo en 6.9 % debido a la prohibición de importación de animales vivos para faena desde Canadá y, además, porque los productores de dicho país están en un proceso de retención de vientres motivado por la positiva situación de precios.

La producción de carne bovina mundial alcanzó 62,28 millones t en el 2004 (Figura 1). En ese año la región más productora de carne bovina en el mundo fue América Latina y el Caribe con 15.14 millones t, seguida por América del Norte con 12,72 millones, lo que representa 44.74 % de la producción de carne bovina mundial, mientras que Asia produce 15.58 millones t (25.02 %) y Europa 11.60 millones t (18.63 %); África y Oceanía producen 4.46 (7.16 %) y 2.77 (4.45 %) millones t (FAO, 2009).

Figura 1: Producción de Carne Bovina Mundial



Fuente: FAO, 2009.

Producción de carne bovina en México:

En México la ganadería bovina y la industria de la carne son una de las principales actividades del sector agropecuario nacional y es probablemente la actividad productiva más diseminada en el sector rural. Existen más de un millón de unidades de producción y ranchos ganaderos distribuidos en todas las regiones de México, trabajando con diferentes métodos y tecnologías desarrolladas para este sector de la producción. La ganadería utiliza cerca del 53.7 % de los 200 millones de ha de terreno disponibles en México y contribuye con aproximadamente 40 % del PIB del sector agropecuario.

En el 2005 los principales estados productores de carne de bovino fueron Veracruz con 13.4 % de la producción nacional, Jalisco con 11.4 %, Chiapas con

5.5 %, Sonora con 5.1 % y Chihuahua con 4.9 %. Estos cinco estados aportaron 58.7 % de la producción nacional total. La producción carne de bovino en canal aporta 39.0 % del total del valor de las carnes, seguido por la de ave con 35.0 % y la carne de porcino con 23.0 %, mientras que la producción de ovinos, caprino y guajolote aportan solamente 3.0 %.

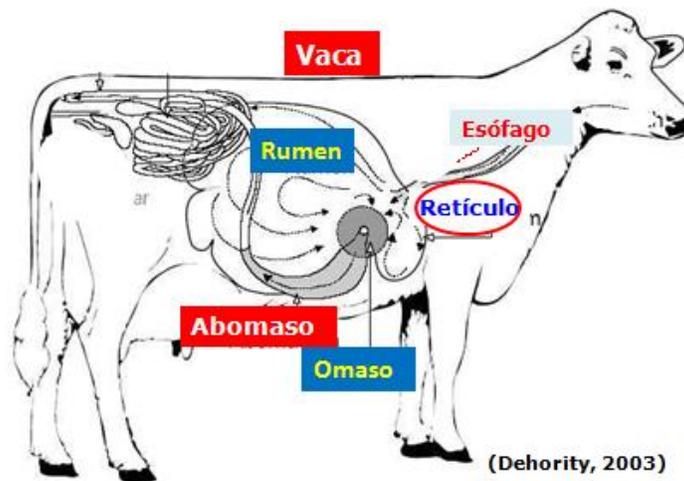
Los volúmenes más altos de producción de carne bovina ocurren durante los meses de octubre a diciembre, teniendo su punto más alto en noviembre; este incremento en la producción se debe invariablemente a la abundante producción de forrajes. El consumo per cápita de carne bovina presenta un comportamiento estable entre 16 y 17 kg por habitante; sin embargo al comparar el periodo 2000 a 2005, en el año 2004 se presentó una disminución de 3.9 %, debido principalmente al cierre de fronteras para importación de carne de los EE. UU y Canadá por razones sanitarias, y la producción nacional no tuvo la capacidad de reacción para abastecer este mercado insatisfecho (Gallardo, 2006).

Nutrición y alimentación de bovinos:

Bovinos, ovinos, caprinos y búfalos son rumiantes herbívoros cuyas dietas están compuestas principalmente por pastos y arbustos (forrajes). Los rumiantes mastican y rumian el alimento, lo fermentan en el rumen y lo reducen a un tamaño adecuado para pasar a través del orificio retículo omasal y seguir hacia el abomaso e intestino delgado. La fermentación ruminal, así como la digestión en el abomaso y luego digestión y absorción en el intestino delgado, permiten al rumiante obtener parte de la energía almacenada en los componentes de la pared celular (fibra) de las plantas. La fibra proporciona fuerza y rigidez a las plantas, es

el componente principal de sus tallos y contiene azúcares complejos como celulosa y hemicelulosa que son degradados por las enzimas secretadas por las bacterias del rumen (Figura 2); estos procesos permiten al rumiante obtener energía de la fibra.

Figura 2. El sistema digestivo de una vaca.



Mamíferos herbívoros con rumen, retículo, abomaso (estómago) y omaso.

Obtienen energía de polisacáridos vegetales a través de su simbiosis con microorganismos ruminales (bacterias, protozoarios y hongos)

En la nutrición de rumiantes se debe tomar en cuenta primero que la dieta contenga todos los nutrientes en forma balanceada para aportar las cantidades necesarias de proteína, energía, vitaminas, minerales y así cubrir los requerimientos de mantenimiento y producción. Castañeda *et al.* (2005) mencionan que la adecuada nutrición animal depende de cuatro factores básicos: los requerimientos del animal, el contenido de nutrientes, la Degradación del alimento y el consumo voluntario.

Los minerales en la nutrición de bovinos:

Los minerales constituyen entre 4 a 5 % del peso vivo del animal, y su presencia es necesaria para la vida y salud de todas las especies. En los sistemas de producción de rumiantes y en particular de los bovinos, se presta todavía poca atención a la nutrición mineral, aun cuando existen alrededor de 21 elementos (minerales) esenciales o probablemente esenciales que cumplen funciones fisiológicas y metabólicas dentro del organismo. Además se ha mostrado que tanto deficiencias como excesos originan problemas en el organismo y puedan causar en casos extremos la muerte de los animales. Otro aspecto importante es la evidencia de que algunos pueden ser no esenciales, pero es importante su inclusión dentro de la dieta de los bovinos debido a que son potencialmente tóxicos (Ciria, 2005).

La función que llevan a cabo los minerales y que afectan los procesos de los animales son numerosos (Cashman y Flynn, 1999), entre los cuales se encuentran los siguientes:

- Formación del esqueleto y mantenimiento, incluyendo la formación de huesos y dientes,
- Reacciones de transferencia de energía en las cuales participan los minerales que forman parte de enzimas y otros metabolitos esenciales para la síntesis de moléculas, como ATP, que transfieren la energía y necesaria para las reacciones metabólicas que permiten el crecimiento y reproducción normal en los animales.

- Funciones vitales de regulación: presión osmótica, equilibrio ácido-base (pH), permeabilidad de membranas; actividad neuro-muscular y transporte de oxígeno en las células
- Regulación de funciones básicas del cuerpo, por ejemplo, en el sistema nervioso.

Importancia del selenio y del cromo

El selenio

El selenio (Se) es un semi-metal que pertenece al grupo VIA de la tabla periódica de los elementos, tiene un peso atómico de 78.96 g/mol, y su número atómico es 34. Es un elemento bastante escaso porque su contenido en la corteza terrestre es solamente de 0,09 ppm (Ullrey, 1992). El Se está presente en la naturaleza en los estados de oxidación 2-, 0, 4+ y 6+, mientras que su asociación y concentración en un determinado ambiente depende de factores como el pH, potencial de oxido-reducción, solubilidad de las sales, interacciones biológicas y relaciones cinéticas (Shamberguer, 1981). El interés en este mineral empezó en 1973, cuando Rotruck descubrió que el Se era parte integral de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px) la cual actúa dentro de las mitocondrias, para proteger a las membranas celulares de los daños peroxidativos (Kayanoki et al., 1996) y cataliza la reducción de peróxidos antes que estos pueden hidrolizar las membranas celulares.

Requerimientos, deficiencia y toxicidad del selenio

Según el National Research Council (NRC) las necesidades de Se que deben cubrirse con la dieta varían de 0.1 a 0.3 ppm, aproximadamente (NRC, 2000). Dietas con concentraciones menores a 0.03 ppm se asocian con alteraciones de la salud y la producción (Underwood y Suttle 1999). Los factores que afectan el requerimiento de Se no están bien definidos. Como la función de la vitamina E y el Se están interrelacionadas, una dieta baja en vitamina E puede aumentar los requerimientos de Se requeridos para prevenir ciertas anomalías, como la enfermedad del músculo blanco (distrofia muscular). Schubert et al. (1961) citados por (Bravo y Bañuelos, 1994) atribuye la toxicidad del Se a una interacción con el azufre (S), ya que los microorganismos no distinguen entre los análogos del Se y el S y, consecuentemente, metabolizan cualquiera de estos. Además mencionan que algunas enzimas metabolizan de manera indistinta Se o S debido a sus propiedades físicas similares. Alta concentración de azufre dietario ha incrementado la incidencia de esta enfermedad. Según el NRC (2005), dado que el Se es un elemento altamente tóxico, es conveniente saber el nivel máximo tolerable por el ganado. Según algunos autores (NRC, 2005) los niveles de toxicidad se sitúan alrededor de 3 a 5 mg/kg de materia seca. Este es el motivo principal por el que es de alta importancia respetar las cantidades indicadas para no correr el peligro de intoxicar al animal. En el tejido animal los niveles de Se están influenciados por el contenido de Se en la dieta ofrecida (Mahan *et al.*, 2005). El Se actúa en diversas funciones corporales como el crecimiento, reproducción, la prevención de enfermedades y la

integridad de los tejidos. La deficiencia de Se reduce la tasa de crecimiento, consumo de alimento y los coeficientes de digestión aparente de la materia seca, extracto etéreo y nitrógeno (Glienke *et al.*, 1977).

La falta de vitamina E y Se parece inducir a la formación de factores inmunosupresores y el aumento de la liberación de metabolitos oxigenados. Por lo tanto, es esencial alimentar con un nivel adecuado de vitamina E y Se para controlar las reacciones oxidativas, para mantener la función normal de las células inmunocompetentes y, en consecuencia, para mejorar la resistencia a las enfermedades infecciosas (Lessard *et al.*, 1991).

Funciones fisiológicas

Las funciones del Se en el metabolismo están fuertemente relacionadas con la vitamina E ya que ambos protegen las membranas celulares contra la degeneración y muerte de los tejidos, actuando como antioxidantes. El Se participa en la función inmune del organismo de los animales, estudios muestran un incremento en la concentración de IgG en ovejas y corderos con Se suplementario (Larsen, 1988). Las funciones biológicas de Se están mediadas a través de su presencia en selenoproteínas. Las más extendidas son selenoproteínas tioredoxina reductasa, glutatión peroxidasa, deiodinase de hormonas de la glándula tiroides, selenoproteína P selenoproteína W y otros selenoproteínas (Papp *et al.*, 2007). El selenio también se recomienda como antiestrés para animales que van a ser transportados por periodos largos, ya que mantiene la integridad de los glóbulos rojos y mantiene la membrana celular. Es

un antioxidante porque reduce la formación de peróxidos, ayuda a la síntesis de lipasas pancreáticas, se deposita en el hígado y glóbulos rojos y se absorbe en el duodeno.

- Funciones estructurales (formación de huesos y otros tejidos de sostén)
- Funciones metabólicas (componentes de enzimas o coenzimas, transmisión del impulso nervioso, etc.)

Metabolismo de selenio

La absorción de Se en rumiantes es menor que en no rumiantes debido a la reducción de formas biológicamente activas en su paso por el rumen (Ceballos y Wittwer, 1996). No se ha comprobado que el selenio se absorba en rumen, lo que indica que una de las fuentes de Se en el forraje, como la selenometionina, se libera en el rumen y este no es absorbido en dicho órgano en una cantidad considerable (Hidiroglou y Jenkind, 1973). La microflora del rumen probablemente sea la causante de la poca absorción del Se en rumiantes dado que mucho del Se presente en las dietas es reducido a una forma insoluble por estos microorganismos, además altos niveles de carbohidratos en el alimento favorecen esta conversión del Se. De los microorganismos del rumen, pocos son los que los que transforman el Se en una forma soluble e incorporan el Se a proteína de origen microbiano (Bravo y Bañuelos, 1994). Toyoda *et al.* (1995; citados por Silva *et al.*, 2000) mencionan que la absorción del Se ocurre principalmente en el duodeno y el íleon y su excreción en el duodeno (Church, 1988). La disponibilidad del Se parece estar relacionada con la forma química del elemento y su presencia

en la dieta. El sitio de entrada y de intercambio metabólico del Se es en el hígado, donde está unido en un 61 % a proteínas, del hígado es transferido a las células (McConnell y Cho, 1965; citados por Silva *et al.*, 2000). El Se incorporado a las células microbianas del rumen parece ser baja para el huésped. Hasta un 40 % se convirtió en una forma insoluble cuando los microorganismos del rumen fueron incubados *in vitro* con selenito, esta conversión fue menor cuando se usó selenometionina ya que fue menor la cantidad de Se que se vuelve insoluble cuando se usó esta fuente orgánica (Church, 1988). De la misma manera la incorporación de las formas orgánicas, es decir, selenio unido a aminoácidos logra una mayor concentración tisular de Se que las fuentes inorgánicas de este elemento (Ullrey, 1987). Después de la absorción intestinal o administración parenteral, el Se es llevado al hígado y vertido nuevamente a la circulación sanguínea, se distribuye en los diferentes órganos del cuerpo y se almacena principalmente en los tejidos que contienen proteínas (Krishnamurti *et al.* (1989). Posterior a este proceso el Se es incorporado en la estructura de la enzima antioxidante glutatión-peroxidasa GSH-Px (Levander, 1986). Para lograr una adecuada absorción y transporte de este mineral se requiere una concentración sanguínea de Se que oscile entre 0.47 y 1.4 $\mu\text{mol/L}$ (Stowe y Herdt, 1992).

El cromo

El cromo es el elemento número 21 en cuanto a abundancia sobre la corteza terrestre, Aunque éste existe en varios estados de oxidación, el cero, el trivalente y el hexavalente son los estados más importantes en el medio ambiente y los productos comerciales. Casi todo el cromo presente en la naturaleza está en

la forma trivalente como Cr^{3+} y se le encuentra en la mayoría de los materiales biológicos, asociado fuertemente con proteínas, ácidos nucleicos y en una variedad de ligandos de baja masa molar.

En la forma trivalente Cr^{3+} se encuentra en todos los tejidos y es esencial porque forma parte del factor de tolerancia a la glucosa (FTG), y por esa razón se considera como un potencializador de la acción de la insulina y además parece tener importancia en el metabolismo de los lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Underwood y Suttle, 1999). Se recomienda como anti estrés para animales que van a ser trasladados. Es posible que el cromo intervenga en la síntesis de lípidos y proteínas y en la homeostasis del colesterol sérico. El Cr en su forma trivalente es usado en suplementación de bovinos de leche y otros animales, ya que el Cr hexavalente puede resultar tóxico. El Cr se puede usar como suplemento mediante diversas sales como el picolinato y nicotinato de cromo y la metionina de cromo, que son formas de este mineral altamente disponible. Burton *et al.* (1993) reportaron una respuesta inmunológica positiva en vacas gestantes próximas al parto cuando se suplementaron con cromo.

Requerimientos, deficiencia y toxicidad del cromo

La adición de Cr en bajas concentraciones (.02 a 1 mg/kg) en lotes de animales sujetos a estrés se produjo un aumento de la respuesta inmune y tasa de crecimiento. Existen pocas o limitadas investigaciones en las que se muestran dicha respuesta. Estudios conjuntos con humanos y animales de laboratorio mostraron que la biodisponibilidad es mayor en el Cr orgánico que en el

inorgánico. La máxima tolerancia de concentración de Cr trivalente en formas cloradas fue calculada en 1000 mg Cr/kg de dieta (Bauer et al., 2009).

Funciones fisiológicas

Schwarz y Mertz (1959) mostraron que el Cr es necesario para el crecimiento y la síntesis de proteínas, así como el de potencializar la acción de la insulina y la importancia del Cr trivalente en la utilización de la glucosa (Evans y Pouchnik, 1993). El mecanismo de esta respuesta no se conoce, pero se ha sugerido un efecto del Cr en el metabolismo de la insulina mediante una alteración por este elemento del metabolismo de los carbohidratos. Un suplemento con Cr mejora el rendimiento de los animales mediante la mejora del metabolismo energético (Jacques y Stewart, 1993). La absorción del Cr es adecuada sólo cuando el mineral está asociado con una molécula específica orgánico, tal como Cr tripicolinato (CrPic) (Evans, 1982). Una deficiencia de este mineral causa el deterioro del metabolismo de la glucosa producido por la relación con la insulina (Steele *et al.*, 1977), el cromo forma un complejo entre la esta y sus receptores (McDonald et al., 2006).

El colesterol en suero se incrementó hasta 31.5 % con la adición de Cr a la dieta, sin rebasar el límite superior del rango normal (81,4-134,1mg/dL) reportado por Merck (2000). El nivel de glucosa y colesterol fueron afectados por el Cr y con mayor nivel de Cr en la dieta hubo una menor concentración de glucosa en suero. Garcia *et al.* (2006) encontraron que la concentración de colesterol se incrementó con el Cr; pero éste no rebasó los niveles normales recomendados. Al haber una utilización máxima de la glucosa y síntesis de proteína necesaria para el

crecimiento de los animales, se evita la síntesis de colesterol a partir de acetil-CoA.

Las investigaciones realizadas por Steele *et al.* (1977) muestran que el picolinato de Cr normalizó la concentración de glucosa en plasma. Además, se sugiere que esta variabilidad se puede deber al estatus del Cr en el animal, la cantidad de Cr disponible en la dieta o el estrés ambiental en el cual se encuentre el animal (Southern y Payne, 2003).

Metabolismo de cromo

La absorción de Cr se realiza en el intestino delgado, de manera principal en yeyuno, pero en este segmento la absorción se reduce si existe un exceso de Zn (Mertz, 1987), Smith (1988; citado por Domínguez, 2002) menciona, su transporte se lleva a cabo en sangre a la par con proteínas plasmáticas, mientras que el almacenamiento y uso del Cr es en hígado, bazo, estomago, testículos, riñón, epídimo y timo (Mertz, 1987), y se excreta en la orina, una pequeña parte en la bilis y mediante la respiración (Anderson, 1988). Al ser parte del factor de tolerancia a la glucosa (FTG), su deficiencia produce una disminución de la sensibilidad de tejidos periféricos a insulina. Mertz (1987) y NRC (1985) señalan que el Cr potencializa la actividad de la insulina pero no la sustituye (Domínguez, 2002).

El Cr tiene una función en el metabolismo de proteínas y la síntesis de ARN y parece tener cierta importancia para mantener la integridad del ADN y la expresión del gen (Okada, 1981). Además protege al ARN contra la

desnaturalización y participa en el mantenimiento de la estructura terciaria de los ácidos nucleicos. (Lindemann *et al.*, 1995).

JUSTIFICACIÓN

El suplemento mineral tiene una función en la nutrición y alimentación de los rumiantes debido a sus funciones fisiológicas y estructurales. Sin embargo, la información científica es escasa respecto al efecto de la adición de selenio y cromo quelados con *Saccharomyces cerevisiae* inactiva en dietas para novillos en finalización, sobre la Degradación de la materia seca (MS), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y proteína (PC), así como en el pH, nitrógeno amoniacal (N-NH₃) y ácidos grasos volátiles (AGV) en el rumen.

HIPÓTESIS

La adición de Se y Cr quelados con *Saccharomyces cerevisiae* inactiva en dietas para novillos en finalización, mejora las variables ruminales pH, concentración de AGV y N-NH₃, así como la Degradación de la MS, PC, FDN y FDA.

OBJETIVOS GENERALES

Evaluar los efectos del Se y Cr quelados con *Saccharomyces cerevisiae* inactiva como aditivos en la dieta para bovinos de engorda en finalización, sobre la Degradación y fermentación ruminal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

La presente investigación se realizó en la granja experimental y laboratorio de nutrición animal del Instituto de Recursos Genéticos y Productividad-Ganadería del Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo, ubicado en el Km. 36.5 de la Carretera México-Texcoco, Montecillo, Estado de México. Las coordenadas geográficas son 19° 29' longitud oeste y 98° 53' latitud norte, el clima es templado semi-seco, con una temperatura media anual de 15.9°C, con heladas poco frecuentes y una precipitación pluvial media anual de 686.0 mm y una altitud media de 2.250 msnm.

Animales

Se utilizaron cuatro novillos Holstein con cánula ruminal permanente, con un peso vivo promedio de 400 ± 20 kg distribuidos al azar en corraletas individuales (2 x 5 m) con piso parcial de cemento y tierra, donde se ofreció el alimento a las 08:00 y 16:00 h. Los novillos fueron pesados al iniciar el experimento y 15 días antes de iniciar el estudio recibieron Ivermectina (1 mL/kg) y vitaminas (Vigantol ADE, 3 mL/animal), y durante este tiempo se determinó el consumo voluntario para establecer la cantidad de alimento a ofrecer. Los novillos tuvieron libre acceso a agua limpia y fresca durante todo el periodo experimental, del 30 de mayo al 20 de julio del 2011. El experimento tuvo una duración de 52 días, con cuatro periodos de 13 días: 10 de adaptación a las dietas y tres para tomar muestras. Se determinó el consumo diario de alimento mediante la diferencia de

peso entre el alimento ofrecido y el rechazado del día siguiente y los animales fueron pesados al inicio y final del experimento.

Dietas experimentales

Se formuló una dieta basal para novillos en finalización con 40 % de forraje picado a través de una criba de 4 cm y 60 % concentrado de acuerdo con los requerimientos nutricionales para bovinos (NRC, 2005). Los tratamientos experimentales fueron: 1) dieta basal (T); 2) T + Se; 3) T + Cr y 4) T + Se-Cr, (Tabla 1) y su composición química se presenta en el Cuadro 2. El producto utilizado fue levaduras núcleo Biotecap® con *Saccharomyces cerevisiae* (selenio con levadura 590 mg/kg; cromo con levadura 990 mg/kg) con presentación en polvo. Para separar los efectos se utilizaron los núcleos de Se + levadura y Cr + levadura, los cuales fueron mezclados junto con el concentrado, y posteriormente con el forraje en cantidades determinadas de inclusión para establecer los tratamientos. La cantidad adicionada (0.15 % Biotecap-Se y 0.10 % Biotecap-Cr) de cada producto proporcionó a las dietas 0.88 mg/kg de Se y 0.99 mg/kg de Cr. En muestras de la dieta basal se determinó MS (AOAC^a, 2005) y PC (AOAC^b, 2005), FDN y FDA de acuerdo con Van Soest *et al.* (1991). Los tratamientos se mezclaron durante 30 min con un carro mezclador vertical 1 t de capacidad marca TORMEX 750.

Cuadro 1. Composición de las dietas experimentales

Ingrediente, % MS	Dietas experimentales			
	Testigo	T + Se	T + Cr	T + Se y Cr
Maíz	25.00	25.00	25.00	25.00
Sorgo	25.00	25.00	25.00	25.00
Alfalfa	20.00	20.00	20.00	20.00
Rastrojo de maíz	20.48	20.33	20.38	20.23
Melaza	5.50	5.50	5.50	5.50
Gluten	3.00	3.00	3.00	3.00
Urea	1.00	1.00	1.00	1.00
Bovatec	0.02	0.02	0.02	0.02
Biotecap, Selenio ^a	-	0.15	-	0.15
Biotecap, Cromo ^b	-	-	0.10	0.10

^a Proporciona a la dieta una concentración de 0.88 mg/kg de Se.

^b Proporciona a la dieta una concentración de 0.99 mg/kg de Cr.

Cuadro 2. Composición química de las dietas experimentales

Composición química, %	Testigo	T + Se	T + Cr	T + Se y Cr
MS	89.60	89.17	91.78	91.70
PC	14.50	14.91	15.16	15.01
FDN	37.45	37.30	37.62	37.48
FDA	19.97	19.94	19.44	19.40
EM, Mcal/kg	2.68	2.67	2.67	2.67
Cenizas	4.89	5.17	5.28	5.74

Degradación *in situ*

Se determinó la Degradación *in situ* de acuerdo con la técnica descrita por Vanzant *et al.*; (1998) de la MS, FDN, FDA y PC usando bolsas de poliseda con poro de 40 μm de diámetro, y 7.5 cm de ancho por 15 cm de largo, Las bolsas se colocaron en una estufa de aire forzado con temperatura de 65° C durante 24 h hasta mostrar un peso constante, y fueron estabilizadas en un desecador, identificadas y pesadas. Se depositaron en cada bolsa, por duplicado, 5 g de las dietas experimentales previamente molidas en un molino Wiley con malla de 2 mm; las bolsas fueron selladas mediante calor utilizando un termosellador IMPULSE SEALER modelo AIE-200. Las bolsas fueron colocadas en una malla atada a una cadena para ser depositadas en la parte ventral del rumen e incubadas por 0, 4, 8, 12, 16, 24, 48 y 72 h, después del alimento ofrecido por la mañana. Adicionalmente se calculó la tasa de digestión (k_d). Se utilizaron 64 bolsas por cada periodo de muestreo, 16 por animal, 2 por cada tiempo de incubación las cuales fueron sumergidas en agua tibia (38° C) por 5 min antes de ser depositadas en el rumen. Posteriormente las bolsas fueron retiradas del rumen una vez transcurrido el tiempo correspondiente. Las bolsas de las 0 h fueron sumergidas en el agua a 38 °C con el fin de cuantificar la MS soluble. Las bolsas retiradas del rumen se lavaron con agua corriente hasta quedar limpias, se secaron a temperatura ambiente de 26.0 °C por 24 h y después en una estufa de aire forzado a 55 °C por 24 h y pesadas para determinar la MS, PC, FDN y FDA residual.

Determinación de pH, AGV y N-NH₃ en el líquido ruminal

Para determinar la concentración de pH, ácidos grasos volátiles (AGV) y nitrógeno amoniacal (N-NH₃), en el primer día de muestreo de cada periodo experimental se recolectaron 50 mL de líquido ruminal 4 h después de suministrar el alimento de la mañana a los novillos. El líquido fue filtrado usando una capa doble de gasas e inmediatamente se midió el pH con un potenciómetro portátil (ORION, modelo SA 210), y posteriormente se adicionó 4 mL de líquido en un tubo de ensaye con 1 mL de ácido metafosfórico al 25 % (v/v), para lograr una concentración de 4:1 y se congelaron para el análisis posterior de AGV y N-NH₃.

Para determinar la concentración de AGV, las muestras fueron descongeladas y una alícuota de 3 mL fue centrifugada a 12,000 rpm durante 10 min; el sobrenadante se colocó en viales de vidrio de 1 mL y se midió la concentración de AGV de acuerdo con Erwin *et al.* (1961) utilizando 2 µL inyectados a un cromatógrafo de gases Perkin ElmerTM, modelo Claurus 500, con automuestreador y equipado con una columna capilar de Phase: Elite FFAP con dimensiones L 15, DI 0.32, DF 0.25 serial #: 219134, temperatura de inyector de 240° C, detector de ionización de flama (FID) de 250° C y de horno de 80° C (1 min) con incrementos de 20° C min⁻¹ hasta alcanzar 140° C (3 min) y una velocidad de gases (H₂ y N₂) de 40 mL min⁻¹ y 400 mL min⁻¹ para el aire. Para determinar la concentración del N-NH₃ (McCollough, 1967), una muestra del líquido ruminal descongelado de 2 mL se centrifugó a 3,000 rpm por 10 min, del sobrenadante se recolectaron 20 µL y se depositaron en tubos de ensaye de 10 mL adicionando 1 mL de fenol y 1 mL de hipoclorito de sodio. Las muestras se

incubaron en baño maría marca Felisa a 37° C por 30 min y se adicionaron 5 mL de agua destilada para diluir las muestras, se agitaron en un vortex (Genie 2, modelo G-560) y se realizó la lectura en un espectrofotómetro de luz ultravioleta visible CARY 1-E VARIAN (Perkin Elmer, modelo lamda-40) a 630 nm.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental cuadro latino 4 X 4 y los resultados se analizaron usando el procedimiento GLM del programa estadístico SAS (2010). Las medias de tratamientos fueron comparadas con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

$$Y_{ijk} = \mu + N_i + P_j + T_k + E_{ijk}$$

donde Y_{ijk} = variable respuesta; μ = efecto común de experiencias; N_i = efecto del novillo; P_j = período efecto; T_k = efecto del tratamiento y E_{ijk} = error residual.

Degradación *in vitro*

Con el propósito de comparar la Degradación de la MS, PC y concentraciones de AGV y N-NH₃ obtenidas en el ensayo *in situ*, se realizaron pruebas *in vitro* de las mismas dietas experimentales. Para determinar la Degradación de la MS y PC se empleó una incubadora DAISY¹¹, marca ANKOM y modelo D-200. Se utilizaran bolsas filtro F57, marca ANKOM, las cuales se enjuagaron antes de su uso durante 5 min en acetona, para limpiarlas y eliminar impurezas, se secaron a temperatura ambiente (26.0 °C) y se llevaron a peso constante mediante al uso de una estufa de aire forzado a una temperatura de 65 °C durante 24 h; después se depositaron en un desecador y se pesaron

transcurridas 24 h. En cada bolsa se colocaron 0.5 g de muestra y se sellaron usando un termosellador. Se utilizaron 2 bolsas por tratamiento y por periodo de incubación, y 2 bolsas blanco para corregir los pesos por periodo. Los periodos de incubación para las muestras fueron 0, 4, 8, 12, 16, 24, 48 y 72 h, cada periodo de incubación se corrió por triplicado mediante el método descrito por ANKOM Technology-08/05.

El líquido ruminal usado para las determinación de las Degradaciones *in vitro* se obtuvo de los mismos novillos fistulados usados para el ensayo de Degradaciones *in situ*. El líquido ruminal fue filtrado usando una capa doble de gasas y colocado en un termo para ser transportado y evitar el choque térmico de la flora microbiana presente en el liquido; el termo fue preparado con agua tibia a 38 °C, la cual se desecho antes de colocar el liquido ruminal. Para la determinación de las concentraciones de AGV y N-NH₃ se siguieron las mismas metodologías descritas anteriormente.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental usado fue bloques generalizados al azar con repeticiones en el tiempo. Los resultados se analizaron mediante el procedimiento GLM del programa estadístico SAS 2010, comparando las medias de tratamientos por la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + E_{ij}$$

donde Y_{ij} = variable respuesta; Subíndice i = tratamiento (1, 2, 3, 4); Subíndice j = bloque (1, 2, 3); μ = efecto común del experimento; T_i = efecto de tratamiento; B_j = período bloque y E_{ij} = error aleatorio.

RESULTADOS

Degradación *in situ* de la materia seca (DISMS)

La DISMS fue mayor ($P \leq 0.05$) con Se y Cr a las 4 h, y con Se a las 16 h respecto al testigo; sin embargo, a las 72 h la DISMS fue menor ($P \leq 0.05$) para el testigo en comparación con los demás tratamientos. En los demás horarios no se observaron diferencias (Cuadro 3).

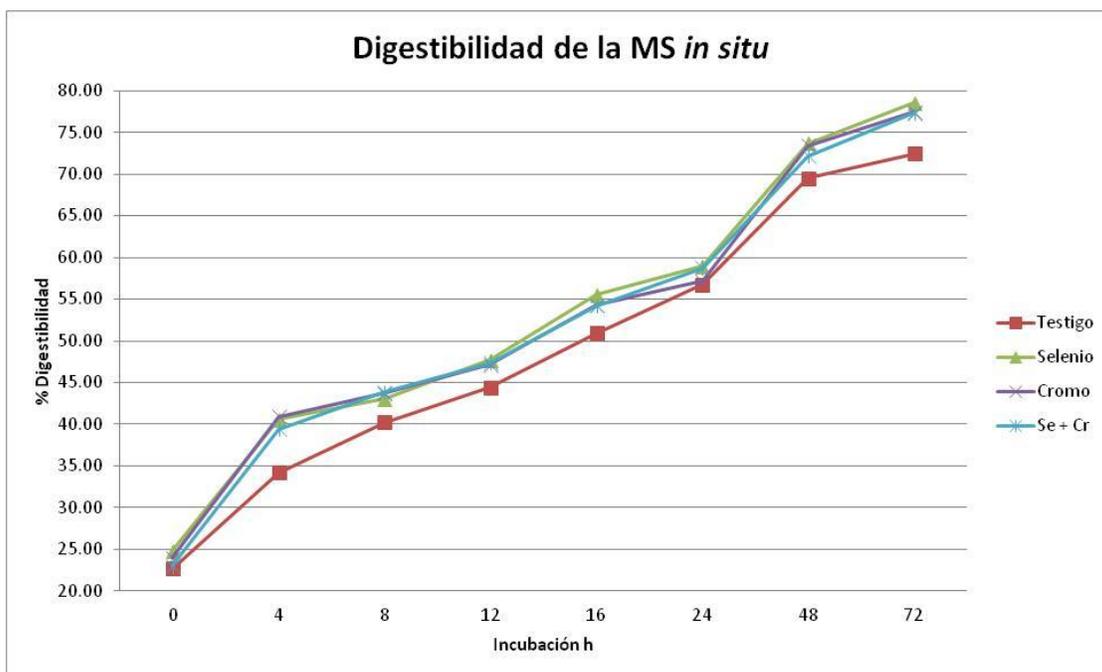
Cuadro 3. Degradación *in situ* de la materia seca de las dietas experimentales.

Incubación (h)	Tratamientos.				
	Testigo	Se	Cr	Se + Cr	EEM.
0	22.66 a	24.84 a	23.99 a	23.06 a	1.035
4	34.24 b	40.61 a	40.91 a	39.42 ab	1.524
8	40.23 a	43.03 a	43.7 a	43.9 a	1.092
12	44.45 a	47.69 a	47.14 a	47.33 a	1.004
16	50.96 b	55.51 a	54.3 ab	54.19 ab	0.983
24	56.75 a	58.94 a	57.16 a	58.72 a	1.161
48	69.5 a	73.71 a	73.38 a	72.15 a	1.082
72	72.46 b	78.56 a	77.47 a	77.28 a	1.001

En la figura 3, se muestra el comportamiento de la DISMS de los tratamientos, determinada en los diferentes tiempos, solo se observaron diferencias significativas a las 72 h de incubación de los tratamientos contra el testigo, analizando en los diferentes tiempos de incubación también se observa

una tendencia de incremento en la DISMS en los tratamientos con Se, Cr o Se + Cr respecto al testigo.

Figura 3. Comportamiento de la DISMS de los tratamientos.



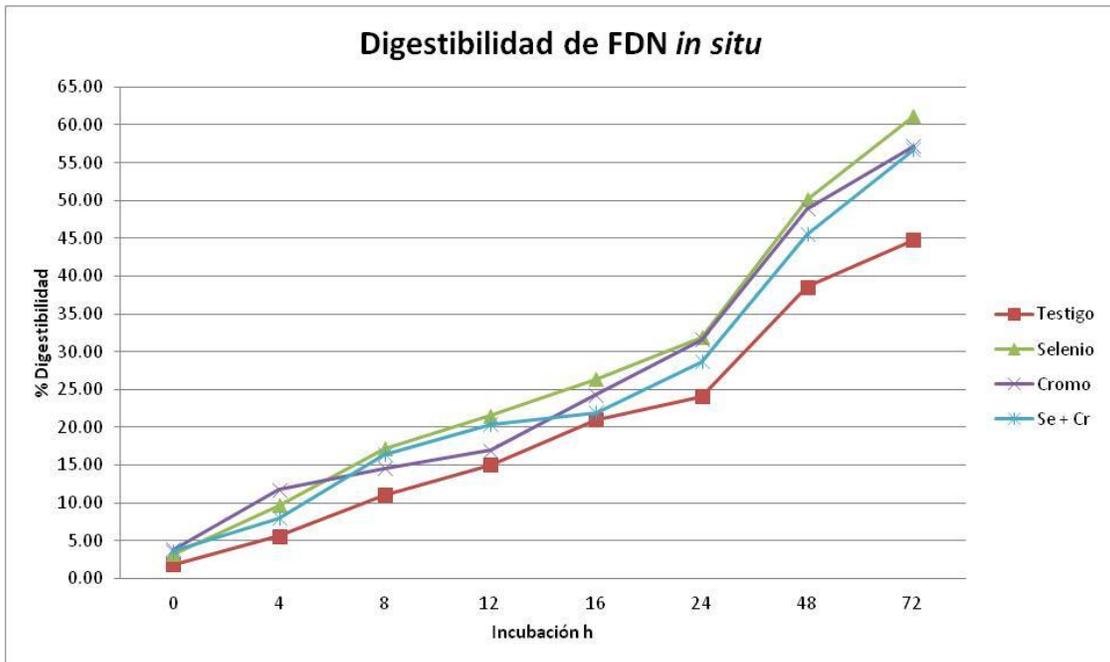
Degradación *in situ* de la fibra detergente neutro (DISFDN)

La DISFDN fue mayor ($P \leq 0.05$) para el tratamiento con Cr respecto al testigo a las 4 h, sin observarse diferencias ($P \leq 0.05$) con los demás tratamientos. Sin embargo, a las 48 h y 72 h la DISFDN fue menor ($P \leq 0.05$) para el testigo que para los demás tratamientos, no presentándose diferencias entre los tratamientos que contenían Se o Cr (Cuadro 4). En la figura 4 se muestran los comportamientos de la DISFDN de los diferentes tratamientos, observándose que los tratamientos que contenían Se y Cr mostraron una tendencia de incremento en la DISFDN en todos los tiempos en que se determinó.

Cuadro 4. Degradación *in situ* de la FDN de las dietas experimentales.

Tratamientos.					
Incubación (h)	Testigo	Se	Cr	Se + Cr	EEM
0	1.86 a	3.17 a	3.84 a	3.61 a	1.107
4	5.61 b	9.65 ab	11.72 a	8.02 ab	1.547
8	11.07 a	17.22 a	14.55 a	16.41 a	1.797
12	15.01 a	21.53 a	16.94 a	20.37 a	1.697
16	21.01 a	26.34 a	24.31 a	21.94 a	0.983
24	24.05 a	31.94 a	31.61 a	28.69 a	2.441
48	38.56 b	50.13 a	48.96 a	45.5 a	2.338
72	44.75 b	61.2 a	57.13 a	56.76 a	2.100

Figura 4. Comportamiento de la DISFDN de los tratamientos.



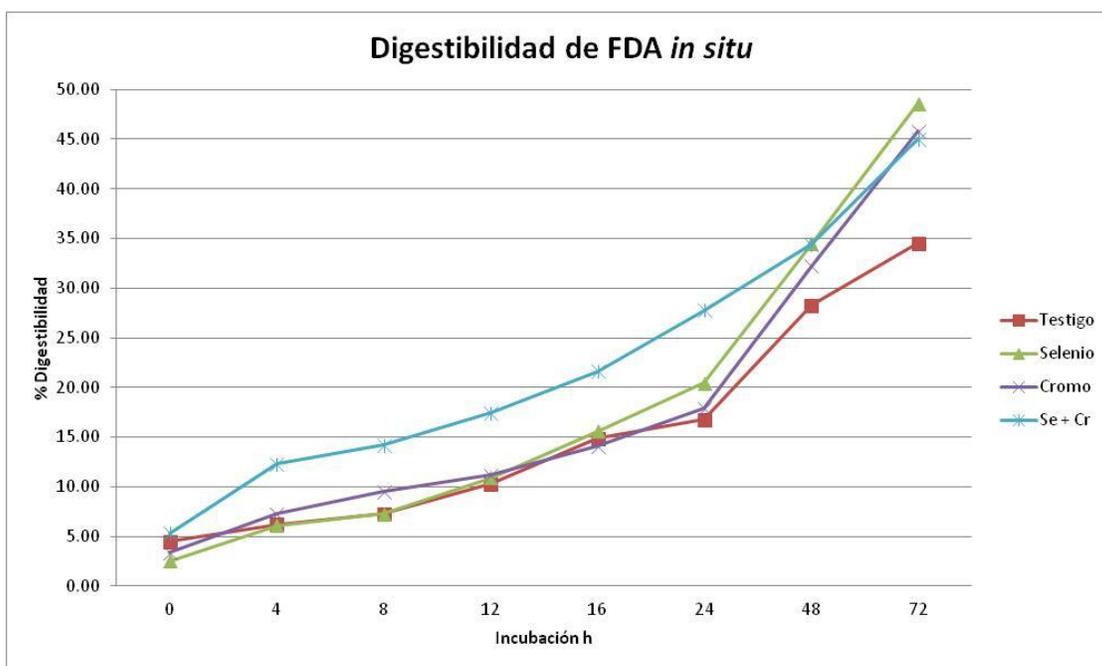
Degradación *in situ* de la fibra detergente ácido (DISFDA)

La DISFDA fue mayor ($P \leq 0.05$) a las 4, 8, 12, 16, 24 y 72 h para el tratamiento con Se + Cr respecto a los demás tratamientos, no presentándose diferencias a las 48 h entre el testigo y los tratamientos con Se o Cr (Cuadro 5). En la figura 3 se muestran las DISFDA acumuladas en el tiempo, observándose que el tratamiento de Se + Cr presentó mayores Degradaciones, con excepción a las 48 h, respecto a los demás tratamientos, mientras que la inclusión de Se y Cr en los tratamientos causó tendencias a incrementar la DISFDA respecto al testigo, observándose solo diferencias significativas en las 48 y 72 h de incubación de los tratamientos respecto del testigo.

Cuadro 5. Degradación *in situ* de la FDA de las dietas experimentales.

Incubación (h)	Tratamientos.				
	Testigo	Se	Cr	Se + Cr	EEM
0	4.46 a	2.53 a	3.36 a	5.34 a	1.103
4	6.19 b	6.1 b	7.26 b	12.28 a	0.783
8	7.3 b	7.28 b	9.51 b	14.18 a	0.958
12	10.3 b	10.88 b	11.18 b	17.42 a	1.372
16	14.88 b	15.57 b	14.11 b	21.61 a	0.842
24	16.78 b	20.46 b	17.88 b	27.78 a	1.474
48	28.28 a	34.45 a	32.22 a	34.39 a	2.459
72	34.52 b	48.61 a	45.78 a	45.03 a	2.362

Figura 5. Comportamiento de la DISFDA de los tratamientos.



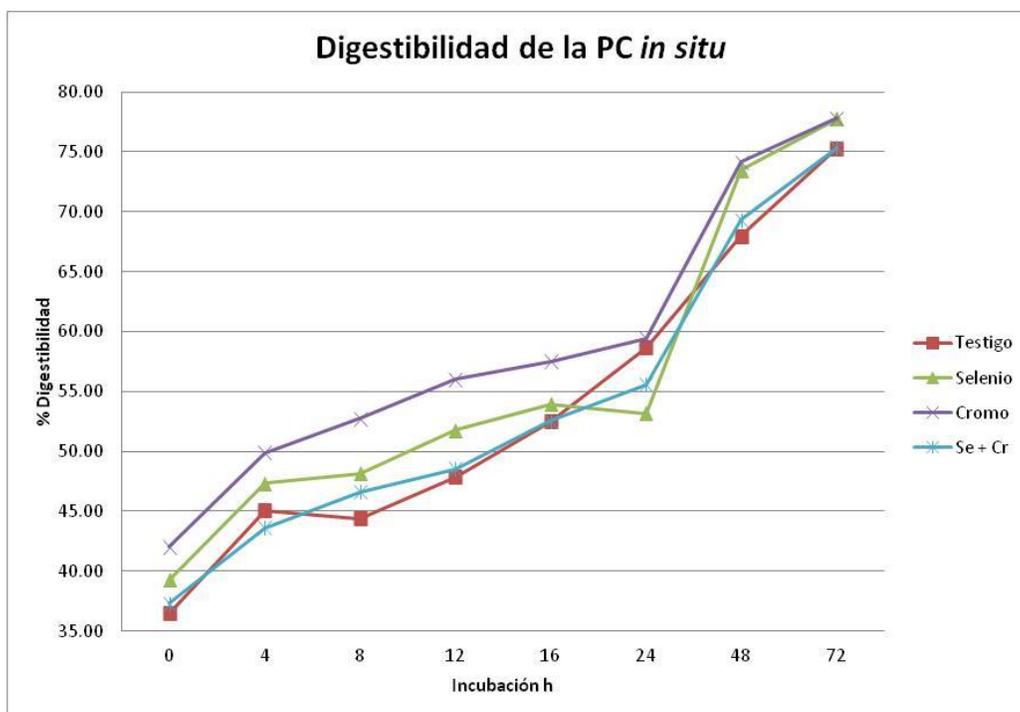
Degradación *in situ* de la proteína cruda (DISPC)

La DISPC fue mayor ($P \leq 0.05$) a las 4 h para el tratamiento con Cr en comparación con el de Se + Cr, a las 8 h con el testigo y Se + Cr y a las 12 y 16 h con todos los tratamientos. A las 24 y 72 h no se observaron diferencias, pero a las 48 h fue mayor ($P \leq 0.05$) que la del testigo y la de Se + Cr-levadura. El tratamiento con Se mostró mayor ($P \leq 0.05$) DISPC a las 8 y 12 h con el tratamiento con Se + Cr y testigo, y solamente con el testigo a las 48 h (Cuadro 6). En la figura 5 se presentan las DISPC acumulada para cada tratamiento, observándose que el tratamiento con Cr mostró mayores tendencias de incremento en la DISPC que los demás tratamientos hasta las 24 h y que, los tratamientos con Se y Se + Cr presentaron tendencias de incremento en la DISPC comparadas con la del testigo hasta las 48 h.

Cuadro 6. Degradación *in situ* de la proteína cruda de las dietas experimentales

Tratamientos.					
Incubación (h)	Testigo	Se	Cr	Se + Cr	EEM
0	36.5 b	39.28 ab	42.02 a	37.31 b	0.872
4	45.08 ab	47.35 ab	49.91 a	43.61 b	1.451
8	44.38 b	48.17 a	52.76 a	46.61 b	1.026
12	47.87 c	51.75 b	56.01 a	48.52 c	0.712
16	52.52 b	53.95 b	57.5 a	52.54 b	0.790
24	58.69 a	53.19 a	59.45 a	55.6 a	1.215
48	68.00 c	73.46 ab	74.17 a	69.33 b	1.130
72	75.31 a	77.76 a	77.83 a	75.37 a	0.946

Figura 6. Comportamiento de la DISPC de los tratamientos.



Concentración de N-NH₃, AGV y pH

No hubo diferencias ($P \leq 0.05$) en el pH entre tratamientos; sin embargo, la concentración de N-NH₃ fue mayor ($P \leq 0.05$) en los tratamientos con Se y Se + Cr que para el testigo y el tratamiento con Cr. La concentración total de AGV fue mayor en el tratamiento de Se que en los demás tratamientos; sin embargo, no se observaron diferencias ($P \leq 0.05$) en la concentración de ácido acético, propiónico y butírico entre los tratamientos (Cuadro 7).

Cuadro 7. Concentración *in situ* de N-NH₃, AGV y pH en líquido ruminal

	Tratamientos.				
	Testigo	Se	Cr	Se + Cr	EE
N-NH ₃ (mg/dL)	13.03 b	18.75 a	10.27 b	19.45 a	1.027
AGV(mMOL/mL)	68.53	78.07	74.49	73.67	2.418
Acetico %	71.50 a	69.49 a	70.56 a	71.48 a	0.702
Propionico %	16.06 a	17.93 a	17.23 a	16.49 a	0.478
Butirico%	12.44 a	12.58 a	12.20 a	12.02 a	0.359
pH	6.21 a	6.10 a	6.14 a	6.28	0.096

Degradación *in vitro* de la materia seca (DIVMS)

La DIVMS fue mayor ($P \leq 0.05$) con Se + Cr a las 4 h, con respecto al Se y el testigo pero no fue diferente al tratamiento con Cr. Sin embargo en el tratamiento con Cr, la DIVMS fue mayor ($P \leq 0.05$) que en el tratamiento con Se y no diferente con la del testigo. La DIVMS del tratamiento con Se fue menor ($P \leq 0.05$) a las 24 h que en los demás tratamientos, no presentándose diferencias entre tratamientos en los demás horarios (cuadro 8).

Cuadro 8. Degradación *in vitro* de la materia seca de las dietas experimentales

Incubación (h)	Testigo	Se	Cr	Se + Cr	EEM
0	6.03 b	6.1 b	10.15 a	11.85 a	0.942
4	20.9 bc	19.77 c	24.45 ab	26.15 a	0.906
8	32.29 a	30.31 a	34.1 a	34.2 a	1.283
12	40.57 a	40.26 a	42.26 a	43.36 a	1.180
16	49.17 a	48.69 a	52.33 a	52.78 a	1.320
24	59.63 ab	57.28 b	61.91 a	63.22 a	1.117
48	68.28 a	67.15 a	69.29 a	69.02 a	1.004
72	72.92 a	72.59 a	73.2 a	74.4 a	0.973

Degradación in vitro de la proteína cruda (DIVPC)

La DIVPC fue mayor ($P \leq 0.05$) a las 8, 16 y 72 h para el tratamiento con Cr en comparación con el testigo y los dos tratamientos restantes, los cuales no mostraron diferencia entre sí. No se observaron diferencias en la DIVPC en los horarios restantes entre tratamientos (Cuadro 9).

Cuadro 9. Degradación *in vitro* de la proteína cruda de las dietas experimentales.

Incubación (h)	Tratamientos				EEM
	Testigo	Se	Cr	Se + Cr	
0	19.99 a	20.01 a	21.15 a	23.32 a	1.151
4	24.85 a	26.46 a	31.82 a	25.51 a	2.191
8	29.72 b	30.46 b	36.47 a	32.11 b	0.812
12	34.74 ab	33.09 b	39.67 a	36.96 ab	1.260
16	36.82 b	35.55 b	42.57 a	38.7 b	0.797
24	49.11 b	51.49 ab	60.44 a	51.18 ab	2.653
48	57.09 a	58.86 a	71.15 a	56.18 a	4.173
72	66.21 b	66.00 b	86.37 a	65.85 b	2.867

Concentración de N-NH₃, AGV y pH

No hubo diferencias ($P \leq 0.05$) en la concentración de N-NH₃ entre tratamientos. En la concentración total de AGV y concentración de ácido acético y propiónico, no se observaron diferencias entre tratamientos, pero se encontraron diferencias en la concentración de ácido butírico, siendo mayor ($P \leq 0.05$) en los tratamientos con Se y Cr respecto al testigo y el tratamiento con Se + Cr (Cuadro 10).

Cuadro 10. Concentración *in vitro* de N-NH₃ y AGV en líquido ruminal

Tratamientos.

Concepto	Testigo	Se	Cr	Se + CrEEM.	
N-NH ₃ (mg/dL)	29.85 a	25.93 a	33.31 a	27.46 a	2.018
Total AGV*	28.33	25.09	33.37	26.57	
Acético %	69.79 a	67.19 a	66.77 a	68.39 a	0.908
Propiónico %	20.14 a	21.46 a	21.71 a	20.98 a	0.708
Butírico %	10.06 b	11.35 a	11.52 a	10.62 ab	0.249

*(mMOL/ mL)

DISCUSIÓN

Los estudios referentes con la adición de Cr o Se orgánicos en las dietas para rumiantes, se refieren a los efectos que estos causan en el consumo de alimento, ganancia de peso, composición y rendimiento de la lana, principalmente relacionando su efecto a nivel metabólico, pues son considerados como modificadores del metabolismo (Dikeman, 2007). Solamente en algunas

investigaciones se ha relacionado el efecto de la adición de estos minerales orgánicos en la degradación del alimento y fermentación en el rumen. La ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia o rendimiento y composición (grasa) de la canal, están relacionados con la degradación y variables de fermentación en rumen, pero no se conoce a ciencia cierta si estos minerales tienen algún efecto en el metabolismo de la flora microbiana respecto a la degradabilidad de la materia seca, proteína, pH o en la concentración de ácidos grasos volátiles en el rumen, los cuales, al ser modificados, pueden afectar la respuesta animal. Además, en la literatura revisada se encontraron escasos estudios donde la adición de minerales orgánicos (quelados con levaduras) tenga efectos en el ámbito ruminal, ya que no los relacionan con el metabolismo ruminal al considerar que estos minerales suelen sobrepasar el rumen y ser absorbidos en el intestino delgado, ya sea en forma inorgánica u orgánica unidos a la fracción de proteína bacteriana (Koenig *et al.*, 1997) y, por lo tanto, su efecto será en el ámbito metabólico del animal, en el caso del Cr como factor de tolerancia a la glucosa (Striffler *et al.*, 1995), y al Se por su actividad metabólica relacionada con la glutatión peroxidasa (Kayanoki *et al.*, 1996). El efecto de estos minerales en el metabolismo del rumen no es claro, pero una forma indirecta de evaluarlo es determinando la degradabilidad y variables de la fermentación ruminal cuando se adicionan como suplemento en forma quelatada con levaduras inactivas

En el presente estudio, las dosis incluidas a la dieta basal de Se y Cr orgánicos fueron 0.88 mg/kg y 0.99 mg/kg, respectivamente, cantidades superiores a las recomendadas. En el caso del Se los requerimientos son de 0.1-

0.3 ppm (NRC, 2005). Concentraciones menores a 0.03 ppm se asocian con alteraciones de la salud y la disminución de la producción (Underwood y Suttle 1999) y, para el Cr no se conoce el requerimiento de este mineral, aun cuando se recomiendan niveles máximos de inclusión tolerables por los animales, la máxima tolerancia de concentración de Cr trivalente en formas cloradas es 1000 mg Cr/kg (Bauer; Rush y Rasby, 2009). Sin embargo, los resultados del presente estudio no indicaron ningún efecto tóxico en los novillos con los niveles incluidos en las dietas. Este resultado sugiere que proporcionar suplementos de Se y Cr orgánicos superiores a las recomendaciones reportadas en la literatura deben ser revisados. Bunting (2007) reporta que en dietas experimentales para rumiantes las dosis de Cr van de 0.3 a 1.6 ppm; además menciona que la concentración en dietas es mayor que el suplemento de Cr adicional (0.25 a 0.5 ppm), y que existe poca y muy variada información disponible acerca del contenido del Cr en los alimentos usados en la alimentación de especies pecuarias.

De acuerdo con los resultados del presente estudio, la DISMS fue mayor, en promedio, de 7 %, a las 72 h en las dietas adicionadas con Se, Cr o Se + Cr respecto al testigo, como una consecuencia del incremento, en promedio, del 23 % de la DISFDN y del 25 % en la DISFDA determinada a la misma hora, pero no hubo diferencia en la DISPC. Sin embargo, las diferencias en la DISMS y las fracciones de fibra pueden estar relacionada con la diferencia encontradas en la concentración total de AGV, pues en el tratamiento con Se + levadura, las concentraciones fueron mayores, aun cuando no se detectaron diferencias en las concentraciones de ácido acético, propiónico y butírico y los valores de pH,

aparentemente se favoreció la actividad de los microorganismos del rumen en su actividad de degradación del alimento al adicionar estos minerales, lo cual implicaría que fueron utilizados por los propios microorganismos en su metabolismo. Aunque no se observaron diferencias en la degradación de la proteína del alimento, si se observó un incremento en el N-NH₃ en favor del tratamiento con Se y Se + Cr, lo cual indica que, probablemente, el Se sea un mineral requerido por los microorganismos más que el Cr, aunque en las pruebas *in vitro* los resultados no coincidieron con los de *in situ*.

La inclusión de Se o Se + Cr orgánicos mejoraron la degradabilidad de la MS en el rumen pero no la inclusión de Cr, así que la combinación de ambos no presentó una acción sinérgica que justifique su inclusión conjunta. Sin embargo, en la prueba de degradabilidad *in vitro*, no se observaron estas diferencias. El incremento de la Degradación de la MS observada en el rumen se puede atribuir al aumento en la Degradación de la FDN y FDA debido a la adición de Se. Estos resultados no coinciden con los reportados por Romero *et al.* (2009), quienes no encontraron diferencias en la degradabilidad de la MS en el rumen de novillos en finalización cuando recibieron un suplemento con minerales quelados con levadura de SC.

Rodríguez *et al.* (2011) mencionan que un suplemento con Se o Cr orgánicos (Cr 0,3 mg/kg y Se 0,3 mg/kg y Cr 0,4 mg/kg y Se 0,4 mg/kg) quelados con levaduras, mejoran la eficiencia parcial de utilización del alimento en ovinos sin afectar el consumo voluntario, lo cual coincide con los resultados del presente estudio. Sin embargo, Domínguez *et al.* (2009) reportan que con una dieta de

finalización para ovinos, combinando dosis de Cr (0; 0,25 y 0,35 mg) y Se (0 y 0,3 mg) quelados con levaduras, el Se no afectó las variables productivas pero el Cr mostró una respuesta positiva en la ganancia de peso.

Los resultados indican que el Se y Cr orgánicos no afectan la fermentación ruminal y que las variaciones en la Degradación de la MS, fibra o PC pueden deberse a otros factores no relacionados con el metabolismo de las bacterias que involucren a estos minerales. Estos resultados coinciden con los reportados por Romero *et al.* (2009) quienes observaron que un suplemento con Se, Cr o Zn quelados con levadura de SC no tuvo efectos en las variables ruminales, pH, AGV y N-NH₃ en bovinos, pero no queda clara la acción del Cr y Se en el metabolismo del rumen.

El efecto del Se y Cr orgánicos fue incrementar la degradabilidad de la MS en el rumen sin afectar las variables de fermentación, lo cual indica que probablemente hubo mayor disponibilidad de nutrientes para ser absorbidos y metabolizados, y que su efecto está más asociado con la fisiología y metabolismo animal. Según (Underwood y Suttle, 1999), un suplemento con Se mejora el crecimiento de borregos en dietas deficientes en este microelemento. Aun cuando toda la fisiología y metabolismo del Se no está claro, sí se sabe que su presencia es importante en la formación de la enzima glutatión peroxidasa y del mantenimiento de las membranas celulares, actuando como un antioxidante conjuntamente con la vitamina E. Además, la actividad del Cr tiene mayor relación con la fisiología y metabolismo de la glucosa en el animal que con los efectos que puedan asociarse a nivel del metabolismo del rumen.

CONCLUSIONES

En las condiciones experimentales descritas para el presente estudio, se concluye que un suplemento con Se o Cr orgánicos quelados con levaduras de *Saccharomyces cerevisiae* incrementan la degradabilidad de la MS, FDN y FDA en el rumen, pero no la de la PC. Además, estos suplemento no cambiaron la concentración de ácidos grasos volátiles, nitrógeno amoniacal ni el pH en el rumen.

Los novillos consumieron las dietas con Se o Cr orgánicos en una concentración mayor a la recomendada, pero no mostraron síntomas de toxicidad.

LITERATURA CITADA

- Anderson, R.A. 1988. Chromium. *In: Trace Minerals in Foods*. Marcel Dekker, Inc., USA. pp: 231-248
- AOAC^a, 2005. Official Methods of Analysis of the Official Association of Analytical Chemists. *In: Horwitz, W. (ed.), Method 935.29, 18th edition*. Gaithersburg, USA.
- AOAC^b, 2005. Official Methods of Analysis of the Official Association of Analytical Chemists. *In: Horwitz, W. (ed.), Method 976.06, 18th edition*. Gaithersburg, USA.
- Dennis Bauer, D., Rush, I. y Rasby, R. 2009. Minerales y vitaminas en bovinos de carne. Capítulo 4 Univ. de Nebraska, EE.UU. Sitio Argentino de Producción Animal. Pp 18.
- Bravo M., E., y J. Bañuelos L. 1994. Comportamiento de ovinos suplementados con selenio. Tesis Profesional. Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx. 80 p.
- Fulghum, R.S. and J.M. Worthington. 1984. Superoxide dismutase in ruminal bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 48: 675-677.
- Bunting, L. D. 2007. Chromium and Dairy Nutrition: What Do We Know? Dairy Technical Specialist. ADM Animal Health and Nutrition and Moormans, Inc. Quincy, IL 62301.

- Bunting, L. D., J. M. Fernandez, D. L. Thompson, Jr., and L. L. Southern. 1994. Influence of chromium picolinate on glucose usage and metabolic criteria in growing Holstein calves. *J. Anim. Sci.* 72:1591-1599.
- Burton, J., Mallard, B. y Mowat, D. 1993. Effects of supplemental chromium on immune responses of periparturient and early-lactation dairy cows. *J. Anim. Sci.* 71: 1532-1539.
- Cashman K.D. & Flynn A. (1999) 'Optimal Nutrition - Calcium, magnesium and phosphorus'. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58 (*):477-487.
- Castañeda, N. Y., S. E. Buntinx D., R. Angulo M., R. Rosiles Martínez. 2005. Efecto de la raza de ovejas lactantes, en el consumo voluntario, en pastoreo. *Vet. Méx.*, 36(1) Pp 41- 52. Mex. D.F.
- Ceballos, M. A., F.G. Wittwer. 1996. Metabolismo del selenio en rumiantes *Arch. Med. Vet.* 28 (2): 5-18.
- Ciria J, Villanueva R, Ciria J. 2005. Avances en nutrición mineral en ganado bovino. IX Seminario de Pastos y Forrajes. Universidad Nacional Experimental del Táchira, San Cristóbal. 31 de marzo al 02 de abril. *Memorias*, pp. 50-69.
- Church, C.D. 1988. *El Rumiante. Fisiología Digestiva y Nutrición*. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. pp 641.
- Dawson ,K. A. 1993. The use of yeast culture in animals feeds: a scientific application of direct fed microbials and challenges of the future. *In: T. P.*

- Lyons (Ed). *Biotechnology in the Feed Industry*, Proceedings of Alltech's Ninth Annual Symposium. USA. pp: 169-172.
- Demetrio J. Mufarrege. 1999. Los minerales en la alimentación de vacunos para carne en la argentina. E.E.A. INTA Mercedes, Corrientes. Trabajo de Divulgación Técnica. p. 36
- Dikeman M.E. 2007. Effects of metabolic modifiers on carcass traits and meat quality. *Meat Sci.* 77:121-135.
- Domínguez V. I. A. 2002. Influencia del cromo y selenio orgánicos en el crecimiento, uso de nutrientes, estado inmune y características de la canal de ovinos en engorda intensiva. Colegio de Postgraduados. Tesis Doctoral. Programa de Ganadería. 141 p.
- Domínguez, V. I. A., S. S. M. González, R. J. M. Pinos, J. L. G. Bórquez, G. R Bárcena, M. G Mendoza, L. Zapata, and L.L.P. Landois. 2009. Effects of feeding selenium-yeast and chromium-yeast to finishing lambs on growth, carcass characteristics, and blood hormones and metabolites. *Anim. Feed Sci. Technol.* 52: 42-49.
- Evans, G. W. 1982. The role of picolinic acid in metal metabolism. *Life Chem. Rep.* 1: 57-67.
- Evans, G. W., D.J. Pouchnik. 1993. Composition and biological activity of chromium-pipidine carbonylate complexes. *J. Inorganic Biochem.* 49:177-187.

FAO, 2009. Tendencias en la Producción Bovina. Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

Finley JW. 1999a. Does selenium accumulation in meat confer a health benefit to the consumer? Proceedings of the American Society of Animal Science (<http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0911.pdf> 12/00).

Gallardo, J. L. 2006. Situación actual y perspectiva de la producción de carne de bovino en México 2006. Coordinación General de Ganadería, SAGARPA. México. pp: 17-18.

García-Castillo R., G. J Velásquez., R. R. Morones, Kawas G., y E. J. Salinas. 2006. Metabolitos en suero sanguíneo de cerdos alimentados con dietas suplementadas con cromo-l-metionina. *Agronomía Mesoamericana* 17(2): 161-165.

García C., C. G. 1999. Efecto de monensina sódica y *Saccharomyces cerevisiae* en la fermentación ruminal y Degradación de una dieta integral, en borregos. Colegio de Postgraduados. Tesis de Maestría. Programa de Ganadería. 80 p.

Glienke L. R., and R. C. Ewan. 1977. Selenium deficiency in the young pig. *J. Anim. Sci.* 45(6):1334-40.

Hidiroglou, M. and Jenkins, K. 1.1973. Absorption of ⁷⁵Se-selenomethionine from the rumen of sheep. *Can. J. Anim. Sci.* 53: 345-347.

Jacques K and McKenzie C 1991 Organic trace minerals on the farm. Feeds and Feeding. 16(18).

Jacques, K., and S. Stewart. 1993. Does chromium have a future in feed? J. Feed Tech. Market. Vol. 44, No. 2.

Kayanoki, Y. J. Fujii, K. N. Islam, K. Suzuki, S. Kawata, Y. Matsuzawa, N. Taniguchi. 1996. The protective role of glutathione peroxidase in apoptosis induced by reactive oxygen species. J. Biochem. 4:817-822.

Koenig, K. M., L. M. Rode, R. D. H Cohen and W.T. Buckley. 1997. Effects of diet and chemical form of selenium on selenium metabolism in sheep. J. Anim. Sci. 75, 817–827.

Krishnamurti, C.R., C.F Ramberg, M.A Shariff. 1989. Kinetic modeling of selenium metabolism in nonpregnant ewes, J. Nutr. 119:1146-1155.

Larsen, H.J., 1988. Influence of selenium on antibody production in sheep. Res. Vet. Sci. 54, 4–12.

Lindemann MD, Wood CM, Harper AF, Kornegay ET, Anderson RA. Dietary chromium picolinate additions improve gain: feed and carcass characteristics in growing-finishing pigs and increase litter size in reproducing sows. J Anim Sci. 1995;73(2):457–465.

Levander. O.A. 1986. Selenium. En: Mertz, W. 1986. Trace elements in human and animal nutrition. Vol. 2. 5th. ed., Academic Press, Inc. Orlando, USA.

- Lessard M., Yan W. C., Elliott G. S, Rebd A. H., Van Vleet I. E., G. J. Brisson and R. D. Schultz. 1991. Cellular immune responses in pigs fed a vitamin E- and selenium-deficient diet. *J. Anim. Sci.* 69:1575-1582.
- Luna Martínez Eduardo. Y MPA. Albarrán Días Martha. SAGARPA. situación actual y perspectiva de la producción de carne de bovino en México 2006.
- Mahan D. C., Brendemuh, J. H., Carter S. D., Chiba L. I., Crenshaw T. D. Cromwell G. L, Dove C. R. Harper A. F, Hill G. M., Hollis G. R., Kim S. W., Lindemann M, Maxwell C. V., Miller P. S. Nelssen J. L, Richert B. T, Southern L. L. 2005. Comparison of dietary selenium fed to grower-finisher pigs from various regions of the United States on resulting tissue Se and loin mineral concentrations. *J. Anim. Sci.* 83:852–857
- McConnell, K. P., and Cho, G. J. (1965). Transmucosal movement of selenium *Am. J. Physiol.* 208, 1191 -1195.
- McCullough, H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clin.Chem.*, 17: 297-304.
- McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD, Morgan CA (2006) *Nutrición Animal*. Acribia. Zaragoza, España. 616 pp.
- McDowell, L.R., J.H. Conrad, F.G. Hembry. 1993. Selenio. *Minerales para Rumiantes en Pastoreo en Regiones Tropicales*. 2 ed., Departamento de Zootecnia, Universidad de Florida, Gainesville. USA.

- Merck, 2000. Guía de referencia: Bioquímica sérica (criterios de valoración).
Manual de Merck de veterinaria. 5 ed. Océano grupo editorial, S. A.
Barcelona España. p. 2454-2455.
- Mertz, W. 1987. Trace Elements in Human and Animal Nutrition. 5a., Vol 1,
Academic Press. Inc., USA. Pp: 225-243.
- NRC. 1985. Nutrient Requirements of Sheep. 6th Ed. National Academy Press.
Washington, D.C. USA. Pp. 112.
- NRC. 1989. National requirements of dairy cattle. 6th Ed. National Academy of
Sciences, Washington, D. C. USA.
- NRC. 1997. The Role of Chromium in Animal Nutrition. Washington, D. C. National
Academy of Sciences. National Academy Press. USA. Pp: 120.
- NRC 2000). Nutrient Requirements of Beef Cattle. NRC- NAP- Washington.
- NRC. 2005. Mineral Tolerances of Animals, 2nd edn. National Academy of
Sciences, Washington, D.C. USA.
- Okada, S. et al (1981) Alterations in ribonucleic acid synthesis by chromium (III).
Journal of inorganic Biochemistry, 15, 223–231.
- Papp L.V., Lu J., Holmgren A., Khanna K.K. (2007): From selenium to
selenoproteins: Synthesis, identity and their role in human health.
Antioxidants & Redox Signaling, 9, 775–806.

- Rodríguez A. L. C., G. D. M. Mendoza, N. S. Mota, A. I. T. Osorio, H. R. Lee y P. A. G. Hernández. 2011. Efecto del selenio y cromo orgánicos sobre el comportamiento de ovinos en finalización. Nota técnica. Revista Científica, FCV-LUZ. 21(2):152–155.
- Romero M. J.M.R. Pinos, J. G. Herrera, J. C. García, A. Z. M. Salem, R. Bárcena, G. Alvarez. 2009. Influence of Zilpaterol and Mineral-Yeast Mixture on Ruminant Fermentation and Growth Performance in Finishing Steers. J. Appl. Anim. Res. 35: 77- 81.
- Salamanca C. Arcesio Zoot. 2010. Suplementacion de minerales en la produccion bovina—Mineral supplementation for cattle production. Universidad Cooperativa de Colombia, Arauca. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria 1695-7504. Vol. 11, N° 09, septiembre/2010.
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090910.html>
- SAS, 1999. User's Guide: Statistics. Version 8. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- SAS. 2002. Statistical Analysis System Institute. User's Guide: Statistics. Cary, NC, USA. Release 8.02.
- Schwarz, K. & Mertz, W. (1959) Chromium (III) and the glucose tolerance factor (Letters to the Editors). Arch. Biochem. Biophys. 85: 292-295.
- Shamberguer, J.R. 1981. Biochemistry of selenium. Plenum Press. New York and London.

- Silva J. H., M. A. Quiroga, y N. J. Auza. 2000. Selenio en el rumiante. Relaciones suelo, planta, animal. Med Vet 17 (10):229-246.
- Southern, L. L.; Payne, R. L. 2003. Role of chromium in swine nutrition explored. Feedstuffs. Vol. 75. 34:1-3.
- Stowe, H.D., and T.H. Herdt. 1992. Clinical assesment of selenium status of livestock, J.Anim.Sci. 70: 3928-3933.
- Steele, N. C., T. G. Althen, and L. T. Frobish. 1977. Biological activity of glucose tolerance factor in swine. J. Anim. Sci. 45:1341-1346
- Striffler, J.S., J.S. Law, M.M. Polansky, S.J. Bhatena and R.A. Anderson. 1995. Chromium improves insulin response to glucose in rats. Metabolismo. 44:1314.
- Ullrey, D.E. 1987. Biochemical and physiological indicators of selenium status in animals, J.Anim. Sci. 65: 1712-1726.
- Ullrey, D.E. 1992 Basis for regulation of selenium supplements in animal diets. J. Anim. Sci.
- Underwood E.J., Suttle. N. 1999. The Mineral Nutrition of Livestock. 3rd ed. Pp 343-373. CAB International, Wallingford, Oxford, UK.
- Van Soest P., J. Robertson y B. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci., 74: 3583-3597.

Vanzant, E., Cochran, R., Titgemeyer, E. 1998. Standardization of in situ techniques for ruminant feedstuff evaluation. *Journal of Animal Science*. 76: 2717-2729.

Wallace R. J. y C. J. Newbold. 1993. Rumen fermentation and its manipulation: the development of yeast cultures as feed additives. *En* Lyons T.P. (Ed.) *Biotechnology in the Feed Industry. Proc. Alltech's 9th Annual Symposium*. USA. pp. 173-192.