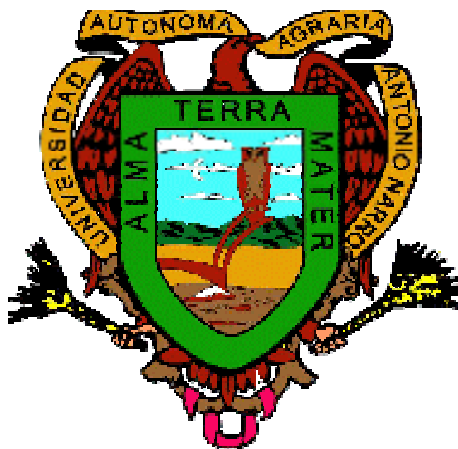


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO “**

**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**



**Tasa De Degradación *In Vitro* De La Fibra De Dietas Para Borregos  
Adicionadas Con Levadura y/o Bicarbonato De Sodio**

**Por:**

**JOEL ESTRADA VELÁZQUEZ**

**TESIS**

**Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:**

**Ingeniero Agrónomo Zootecnista**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.  
Septiembre de 2003**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”**

**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**

**DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y ALIMENTOS**

**Tasa de degradación *in vitro* de la fibra de dietas para borregos  
adicionadas con levadura y/o bicarbonato de sodio**

**POR:**

**JOEL ESTRADA VELÁZQUEZ**

**TESIS**

**QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO  
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA**

**APROBADA**

---

**ING. MC. RAMÓN F. GARCÍA CASTILLO  
PRESIDENTE DEL JURADO**

---

**ING. MC. J. EDUARDO GARCÍA MARTÍNEZ  
SINODAL**

---

**ING. MC. CAMELIA CRUZ RODRÍGUEZ  
SINODAL**

---

**ING. RODOLFO PEÑA ORANDAY  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México**

Septiembre de 2003

## AGRADECIMIENTOS

**A MI “ALMA TERRA MATER”** por cobijarme en su seno y darme la oportunidad de realizar mis estudios profesionales.

**AL Ing. M.C. Ramon F. García Castillo** por su colaboración, asesoramiento y orientación para la realización de esta trabajo, además por su amistad y sus consejos.

**Al Ing. M.C. J. Eduardo García Martínez** por sus sugerencias, gran colaboración, asesoría y revisión de este trabajo.

**AL Ing. M.C. Camelia Cruz Rodríguez** por su contribución y revisión de este trabajo de tesis.

Al laboratorista Carlos y a la Maestra Laurita por su apoyo en la realización de las análisis de laboratorio.

## **DEDICATORIAS**

### **A DIOS NUESTRO SEÑOR**

*Por las grandes bendiciones recibidas y permitirme seguir viviendo en este mundo.*

### **A MIS PADRES:**

**SR. RAFAEL ESTRADA GARCÍA**  
**SRA. FRANCISCA VELÁZQUEZ GARCÍA**

*Por darme el valioso tesoro de la vida, por su sacrificio, amor sincero y desinteresado. Por que motivaron mi superación, cimentando en mi sus anhelos, ilusiones y esperanzas, alentándome en los momentos difíciles para lograr hacer de mi un hombre de provecho. Por que son y serán mi admiración. Que Dios los cuidé siempre.*

### **A MIS HERMANOS:**

**MIGUEL, CARLOS, REINA, LUIS MIGUEL Y RAFAEL.**

*Por su amistad, sus consejos y su apoyo incondicional, por el gran cariño y respeto que nos une.*

### **A LA MEMORIA DE MI HERMANA ERNESTINA (+)**

*Quien no tubo la fortuna de ver este logro, pero que siempre esta conmigo. Siempre ocuparas un lugar en mí corazón.*

**A ROXANA:** *Por su amor.*

### **A MIS COMPAÑEROS:**

*De generación por compartir su sincera amistad y amigos que de una u otra manera colaboraron en la realización de esta tesis.*

*A MI “ALMA TERRA MATER”*

## INDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
Objetivo.....	2
Hipótesis.....	3
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
Uso de la levadura ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ).....	4
Adición de levadura.....	5
Uso de los buffers.....	6
Adición de buffer en dietas.....	7
Degradabilidad.....	8
Tiempos de incubación.....	13
Fibra en Detergente Neutro.....	14
Importancia de la Fibra en Detergente Neutro.....	15
Características físicas.....	16
Degradación ruminal de la fibra.....	18
La fibra y la función ruminal.....	18

Efecto de la dieta en la tasa de degradación.....	19
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
Ubicación.....	21
Procedimiento experimental.....	21
Dietas experimentales.....	22
Obtención y manejo del líquido ruminal.....	23
Preparación del inóculo.....	25
Análisis de los residuos de la digestión.....	25
Análisis estadístico.....	25
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>28</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>34</b>
<b>VI. RESUMEN.....</b>	<b>35</b>
<b>VII. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>37</b>

**INDICE DE CUADROS**

Cuadro	Pag.
3.1 Dietas suplementadas con levadura (L), bicarbonato (B) y los dos utilizadas en la determinación de degradabilidad de la fibra en detergente neutro (FDN).....	23
4.1 Tasa de degradación de la fibra (Kd) de las dietas estudiadas.....	31
4.2 Porcentaje de fibra potencialmente indigestible de las dietas estudiadas a diferentes tiempos de incubación (T.I.) <i>in vitro</i> .....	32
4.3 Porcentaje de fibra potencialmente digestible de las dietas estudiadas a diferentes tiempos de incubación (T.I.) <i>in vitro</i> .....	33

**INDICE DE FIGURAS**

Figura		Pág.
4.1	Fibra potencialmente digestible (FPD) residual de la dieta SL/SB a diferentes tiempos de incubación <i>in vitro</i> .....	28
4.2	Fibra potencialmente digestible (FPD) residual de la dieta CL/SB a diferentes tiempos de incubación <i>in vitro</i> .....	29
4.3	Fibra potencialmente digestible (FPD) residual de la dieta SL/CB a diferentes tiempos de incubación <i>in vitro</i> .....	29
4.4	Fibra potencialmente digestible (FPD) residual de la dieta CL/CB a diferentes tiempos de incubación <i>in vitro</i> .....	30



## 1. INTRODUCCIÓN.

En general, los animales domésticos que se explotan con el fin de obtener un producto que satisfaga las necesidades alimenticias de la población, cada vez más creciente en nuestro país y en el mundo entero; enfrentan en la actualidad problemas para producir y satisfacer las necesidades nutritivas de la población de una manera eficiente y económicamente rentable.

Al respecto, la alimentación representa uno de los rubros de mayor impacto en los costos de producción, por lo que se hace necesario conocer los factores que pueden limitar la productividad, y disminuir pérdidas.

**Existen en la actualidad una gran variedad de ingredientes que son utilizados para formar parte de las raciones, cada uno de las cuales es administrado para aportar cierto tipo de nutriente ya sea energía, proteína, vitaminas o minerales y otros mas que se utilizan como aditivos para hacer mas apetecible la ración. De igual manera, dietas concentradas conteniendo menor cantidad de FDN que los forrajes de uso tradicional por lo que es necesario evaluar su contenido de**

**fibra así como su cinética ya que se podría afectar el comportamiento de los animales.**

Por otro lado, la adición de compuestos y/o suplementos como levaduras y sales de bicarbonato pueden mejorar la utilización de dietas a través de la proliferación de los microorganismos y estabilizando el pH ruminal.

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar dietas para borregos, altas en concentrado adicionadas con levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y bicarbonato de sodio; a través de la tasa de degradación de la FDN.

**Hipótesis:**

**H<sub>0</sub>:** La adición de levadura y/o bicarbonato de sodio no mejora la tasa de degradación de la FDN de dietas para borregos, altas en concentrado.

**H<sub>∞</sub>:** La adición de levadura y/o bicarbonato de sodio mejora la tasa de degradación de la FDN de dietas para borregos, altas en concentrado.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### Uso de la Levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)

Dentro de los probióticos, destaca el uso, por su eficacia, de las levaduras y en concreto del *Saccharomyces cerevisiae*, contribuyendo al equilibrio de las condiciones óptimas de funcionamiento de la flora microbiana del rumen, mejorando su composición y eficacia. Estos microorganismos son producidos comercialmente para agregarse en las raciones. Son aeróbicos por lo tanto de corta vida en rumen.

Existen una serie de evidencias a nivel de pruebas *in vitro* donde se demuestra que la adición de este probiótico incrementa el número de bacterias celulolíticas a nivel ruminal; además incrementa la ingestión de materia seca, se estimula la producción de amonio, se refuerza la proteólisis y aumenta la digestión de la fibra contenida en el alimento. Lo redonda en un incremento de la producción láctea promedio de 1.13 Kg/vaca/d en una serie de estudios realizados entre los años 1986 y 1997 (Wiedmeier, *et*

*al.*,1987). Sin embargo, el efecto que tienen las levaduras sobre el comportamiento del pH y la desaparición de los productos finales de la digestión han mostrado un comportamiento errático a lo largo del periodo arriba mencionado; lo cual se ha atribuido en gran parte a las diferencias en tipo, condiciones de cultivo y concentración de células usadas (Martín y Nisbet, 1992)

### **Adición de Levadura en Dietas**

Las levaduras estimulan la actividad bacteriana en el rumen, incrementando en el número total de bacterias principalmente en las celulolíticas que pueden ser recuperadas del rumen, lo que podría parecer como una de las más consistentemente reportadas respuestas a la adición de levadura. Hay un consenso de que el incremento en las cuentas bacterianas es primordial para la acción de la levadura dirigiéndose ambos el incremento en la tasa de degradación de fibra en el rumen y el incremento en el flujo de proteína microbiana del rumen hacia el intestino delgado (Martín y Nisbet, 1992; Offer, 1990).

Según Wiedmeier *et al.* (1987), en experimentos realizados *in vivo* la suplementación de levadura en bovinos lecheros mostró un incremento en la digestibilidad total de la proteína cruda y la hemicelulosa; sin embargo, la digestibilidad de la materia seca y la fibra ácido detergente no resultaron afectadas, al igual que los productos de la fermentación y la cinética del flujo ruminal.

### **Uso de los Buffer**

Se utilizan para ayudar a mantener el pH ruminal dentro de los rangos deseados. Dentro de los mas comunes se encuentran el bicarbonato de sodio, sesqui carbonato de sodio y el oxido de magnesio. Estas sustancias evitan la excesiva acidificación del rumen cuando se utilizan raciones altas en concentrado.

La mayoría de estudios en los cuales se ha utilizado algún buffer, especialmente  $\text{NaHCO}_3$ , y que han reportado mejoras en el comportamiento animal han utilizado ensilado de maíz como la principal fuente de forraje. La variación en la respuesta a la suplementación con buffer, puede ser atribuido, al menos en parte, a diferencias en la velocidad de reacción del

tipo de buffer usado (Wheeler *et al.*, 1981), el modo de acción del buffer (Erdman *et al.*, 1982), forma y grado al cual el animal es estresado (manejo) (English *et al.*, 1983), forma física de la dieta (Arambel *et al.*, 1988), o bien por la capacidad buffer de la dieta (De Peters *et al.*, 1984).

Debido al aumento en el consumo de concentrados en la alimentación de ganado lechero y las posibles alteraciones metabólicas que esto implica. Se ha generado un gran interés en el uso de aditivos con capacidad buffer como auxiliares, en la prevención de estas alteraciones, principalmente aquellas relacionadas con acidosis.

### **Adición de Buffer en Dietas**

En cuanto a la adición de buffer en dietas altas en concentrado, puede ser un arma útil para mejorar el comportamiento productivo del animal, siempre y cuando se proporcione la cantidad adecuada de buffer para cada dieta en particular.

Algunas razones citadas en la literatura para el uso de los buffers, mencionan que el comportamiento productivo del animal se mejora ya que

permite que el pH ruminal, se mantenga más cercano al pH óptimo, así como un incremento en la digestibilidad de la fibra (Erdman *et al.*, 1980: Rogers *et al.*, 1982: Snyder *et al.*, 1983). También se ha reportado que los aditivos buffers reestablecen más rápidamente el equilibrio ácido-base (Kilmer *et al.*, 1981). En adición a lo anterior, Rogers *et al.* (1979), mencionó que el uso de bicarbonato de sodio, usado como aditivo buffers, incremento la tasa de pasaje del líquido ruminal, lo cual puede favorecer a que mayor cantidad de proteína alcance el duodeno (Okeke *et al.*, 1983), y que la síntesis de proteína microbiana puede ser mejorada a un pH cercano al neutro (Russel, *et al.*, 1980).

### **Degradabilidad**

El concepto de degradabilidad potencial fue propuesto por (Wilkins, 1969) definiéndolo como la degradación que sufriría un alimento en el ecosistema ruminal, si es que el tiempo de retención en el mismo, no fuera limitante.

La degradabilidad se mide por la pérdida de un periodo específico de incubación. No existe mejor manera de simular el ambiente ruminal dentro



de un régimen alimenticio (temperatura, pH, sustrato buffer, enzima), aunque en el ambiente ruminal el alimento no está sujeto a masticación, rumia y pasaje.

La digestibilidad se define según el potencial de degradación del material, la tasa de degradación de esta fracción potencialmente degradable y su tiempo de paso en el rumen o degradación real, más la digestión que ocurrirá en el tracto digestivo posterior. Los cuales se enfatizarán dentro de los parámetros de la digestión ruminal que son: a) Degradabilidad Potencial. Que se refiere a la degradación que sufrirá un alimento en el ecosistema ruminal si es que las condiciones presentes y el tiempo de retención en el mismo, no fueran limitantes (Wilkins, 1969, citado por Pezo, 1990). En la actualidad no existe todavía un acuerdo, sobre cuál es el tiempo de incubación para estimar la degradación de la M.S., Pared celular, etc.; b) Degradabilidad Inicial. Referente a la degradabilidad de un alimento que corresponde al valor de la digestibilidad obtenida en el tiempo cero, que esto representa las fracciones solubles (Orskov *et al.*, 1980; Mille, 1982, citados por Pezo, 1990). Por lo que se deben hacer determinaciones testigo, sometiendo la muestra en agua a 37° C durante 10 segundos para corregir el error.; c) Periodo de pre-fermentación. Este periodo no es un artificio de los

modelos usados, si no que por el contrario, tiene sentido biológico puesto que para que ocurra degradación de la fracción fibrosa se requiere que esta se hidrate, sufra alteraciones físicas y químicas, y que las bacterias celulolíticas se adhieran a la fibra, especialmente si se trata de los tejidos más lignificados que se degrada muy lentamente (Akin, 1979; Mertens y Ely, 1982; Morris, 1984, citados por Pezo, 1990). Este periodo de pre-fermentación es la degradación de la fibra por la acción enzimático de los microorganismos ruminales; y d) Tasa de Degradación Ruminal: Que es la cantidad de sustrato que puede ser degradada por unidad de tiempo (Van Soest, 1982, citado por Pezo, 1990). Para la determinación de la tasa de degradación de los forrajes se requiere detener el proceso de digestión a intervalos de tiempo previamente establecidos, intervalos que variaran en función del tipo de alimento y de la fracción cuya tasa de degradación se pretenda evaluar. (Mertens y Ely, 1982, citados por Pezo, 1990)

Por otra parte, la habilidad de los rumiantes para digerir y utilizar la fibra de las plantas puede ser aprovechada para transformar esta fuente de energía a leche, carne, etc., por lo que resulta de considerable importancia investigar la forma de mejorar la eficiencia en la utilización de la fibra por los rumiantes domesticados (Fisher *et al.*, 1989). Además, la necesidad de

optimizar la producción animal nos obliga a buscar métodos que permitan un mejor balance de las raciones.

En algunos trabajos en los que parte del forraje fue reemplazado por grano se confirmó la relación entre FDN y el consumo, estos resultados sugirieron que el consumo de dietas con más de 65% de concentrado o con más de 32% de FDN ocasiona la reducción en la digestibilidad de la fibra (Hoover, 1986).

La digestibilidad de un alimento está directamente relacionada con su composición química, en algunos alimentos como granos, la variación en su composición es mínima de una muestra a otra, mientras que en otros como los forrajes frescos, ensilados o henificados, su composición es menos constante y su digestibilidad es más variable. Van Soest (1975). La relación entre la solubilidad o insolubilidad de la materia seca de los forrajes y el consumo voluntario está bien establecida (Donefer *et al.*, 1960). En cuanto a esto Gill *et al.* (1969) observaron que el consumo de materia seca digestible está relacionada con la tasa de desaparición de celulosa digestible. Smith *et al.*, (1970) reportaron que la solubilidad de la materia seca de los forrajes no contribuye directamente a incrementar las tasas de

digestión de la pared celular. La tasa de pasaje de la porción indigerida de los residuos potencialmente digestibles e indigestibles así como la tasa de digestión de la fracción potencialmente digestible son factores involucrados en el consumo voluntario.

Desde hace tiempo en trabajos de digestibilidad *in vitro* se ha tratado de estimar la digestión *in vivo*. Deinum *et al.* (1968) observaron que la digestibilidad de la pared celular *in vitro* fue el más preciso de algunos métodos de laboratorio para predecir la digestibilidad *in vivo*. Recientemente se ha demostrado que al examinar la cinética de la digestión de la pared celular puede ayudar a sugerir métodos con los cuales las fuentes dietéticas de fibra pueden ser más eficientemente utilizadas para mejorar la producción de los rumiantes.

Trabajando con forrajes tropicales y templados Barton *et al.*, (1976) encontraron que la fibra en detergente ácido (FDA) fue menos digestible en las especies templadas, por lo que esto puede ser considerado como un buen estimador de la digestibilidad. En el caso de los forrajes tropicales la proteína es considerada como el mejor predictor de la digestibilidad, seguida por la FDN y la hemicelulosa.

Williams *et al.* (1953) observaron que la digestibilidad de la material seca (DMS) del heno de avena decrecía cuando se adicionaba almidón a la ración de borregos. Usando Novillos Burroughs *et al.* (1949) encontraron resultados similares. Estos decrementos en la DMS pueden ser debidos a disminución en la digestibilidad de la fibra de la dieta. Además, en animales alimentados con dietas ricas en forraje el volumen ocupado por este puede ocasionar una disminución en la digestibilidad y por lo tanto reducir el consumo.

Boetto y Melo (1990) estimaron distintas tasas de digestión de los granos de cereales mas utilizados en la suplementación de vacas lecheras, ubicando a los granos de trigo, cebada, avena, maíz y sorgo en una escala descendente de degradabilidad a nivel ruminal.

### **Tiempos de Incubación**

El tiempo necesario para medir la tasa de degradación varia en función del material que se esta evaluando, por lo que no se puede generalizar un tiempo máximo de incubación, ni tiempos intermedios. Sin

embargo, es importante incluir suficientes observaciones en la parte más sensitiva de la curva de degradación y poner solo las observaciones necesarias que permitan describir bien la parte asintótica, que representa el potencial de degradación.

A la fecha, es difícil indicar el mejor periodo de incubación para predecir la optima digestibilidad de un alimento, debido al diferente uso de bolsas, animales, dietas, tiempos de incubación, etc (Rodríguez 1968). Sin embargo, Orskov (1982) reporta que los concentrados requieren de 12 a 36 horas de incubación, henos y pajas 36 horas, y para forrajes tropicales, el periodo de incubación debe ser superior a 48 horas.

### **Fibra en Detergente Neutro (FDN)**

Fracción del alimento que no es soluble en detergente neutro, consiste en paredes celulares como lignina, celulosa y hemicelulosa, relacionado al consumo de alimento ya que sus componentes ocupan espacio en el rumen y se digieren lentamente y en diferente porcentaje (Ensminger *et al.*, 1990; Schofield *et al.*, 1994). Las recomendaciones recientes de Van Soest *et al.* (1991) para la determinación de FDN sugieren la utilización de amilasas

termoestables específicas (libre de actividad hemicelulasa, proteasa o glucanasa), especialmente en concentrados o ensilados de maíz, y la corrección por el contenido de cenizas.

La FDN esta inversamente relacionada al consumo voluntario por lo que es mas deseable un bajo valor de FDN. La producción de leche en vacas, esta más altamente correlacionada con la porción de FDN de la ración que con la FDA (Ensminger *et al.*, 1990).

### **Importancia de la Fibra en Detergente Neutro (FDN)**

La fibra es uno de las fracciones nutritivas más importantes a suplementar. Los requerimientos de la misma para el ganado lechero se expresan normalmente en términos de FDN (fibra en detergente neutro), cuyo análisis es necesario para la formulación de raciones. Para ponderar la importancia de la fibra se deben contemplar; al menos, dos aspectos: 1) Cantidad. Que se refiere básicamente a las necesidades mínimas y máximas que se deben aportar diariamente para no afectar la digestión y el consumo; y 2) Calidad. Es decir, el potencial que tiene para ser fermentada

en el rumen y producir ácidos grasos volátiles (principal fuente de energía para el animal y precursores para la síntesis de leche).

### **Características Físicas**

Las características nutricionales de la fibra no solo dependen de su composición, si no de las interacciones entre sus componentes y la forma como se presenta al animal. Por estas razones, no es suficiente considerar únicamente el análisis químico como método de valoración de la calidad de un forraje, y es necesario observar el tamaño de partícula y el manejo de la ración. Estas consideraciones dificultan la formulación de raciones y la predicción de la respuesta de los animales a una ración determinada.

Las características físicas de la fibra que consumirá el animal ejercen una marcada influencia en su rendimiento, en forma independiente de la cantidad de fibra total químicamente cuantificada como FDN en la dieta. Esto ha sido comprobado en vacas con alteraciones a nivel ruminal y severas disminuciones en las pruebas de grasa butirosa cuando consumen una ración totalmente mezclada (TMR), químicamente alta en FDN, pero con un tamaño de partícula muy pequeño y homogéneo. Desde el punto de



vista nutricional hay que considerar otras características de la fibra que están relacionadas con su “forma física” y con los mecanismos que favorecen la motilidad ruminal y las actividades de masticación y rumia, aspectos decididamente para una adecuada producción de saliva.

Se debe recordar que la saliva constituye el principal amortiguador de ácidos producidos en el rumen. Con un correcto funcionamiento ruminal es posible optimizar la fermentación y el metabolismo de los nutrientes, prevenir disturbios y aumentar la producción de leche evitando la caída de grasa.

Como ya mencionamos, si bien el análisis del total de FDN de los alimentos es muy útil en la formulación de raciones, el resultado del laboratorio no permite inferir sobre las características de la fibra relacionadas con su “efectividad física”; por esto es que recientemente investigadores incorporaron el concepto de “fibra efectiva” (DFef) en la nutrición de rumiantes, como otro parámetro de importancia para el adecuado balance de la dieta.

## Degradación Ruminal de la Fibra

La fibra se fermenta en el rumen lentamente por la acción de las bacterias fibrolíticas. El proceso de degradación de la fibra se inicia con la adhesión de las bacterias a la pared vegetal, proceso que se realiza a una velocidad inversamente proporcional al grado de lignificación de dicha pared. Una vez adheridas, la degradación de los componentes de la pared celular progresa por la acción de las celulasas y hemicelulasas, y varía en función de la composición tridimensional de los componentes y el grado de lignificación. Las bacterias fibrolíticas producen glucosa o pentosas como productos intermedios, y utilizan mayoritariamente vías fermentativas que conducen a la producción de acetato como producto final. La degradabilidad efectiva en el rumen de la fibra potencialmente degradable depende de la velocidad del tránsito ruminal y su velocidad de degradación.

### **La Fibra y la Función Ruminal**

La fibra, como nutriente, contribuye al mantenimiento del funcionamiento ruminal y de las condiciones ruminales (pH, a través de la secreción salivar dependiente de la masticación y la rumia). Estas dos

funciones dependen de la composición, la degradabilidad y la forma de presentación de la fibra. Por otro lado, la fibra supone un inconveniente, en el sentido que limita el contenido energético de las raciones y el potencial de ingestión (Mertens, 1987). La formulación correcta de raciones debe buscar el equilibrio entre la ingestión máxima de materia seca (niveles bajos de FDN) y el mantenimiento de las funciones y condiciones normales del rumen (aportando unos niveles mínimos de FDN Y FDA).

### **Efecto de la Dieta en la Tasa de Degradación**

La dieta puede tener un efecto importante sobre la tasa de degradación del material que se incuba; por ejemplo: animales que reciben dietas altas en concentrado tienen una actividad celulolítica reducida en el rumen. La dieta básica del animal fistulado tiene un efecto importante en la tasa de desaparición de M.S. del ingrediente a evaluar (Kempton, 1980). por ejemplo, el tiempo medio para la desaparición de M.S. de la cáscara de arroz es considerablemente menos en ovejas recibiendo la dieta de alfalfa picada en comparación con ovejas recibiendo la dieta de melaza líquida y 100 g/d de paja de trigo, Kempton (1980), sugirió que los animales

fistulados reciban dietas uniformes cuando son utilizados para determinar la degradación de ingredientes alimenticios específicos.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### Ubicación

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Nutrición y la Unidad Metabólica del Departamento de Nutrición y Alimentos, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Buenavista, Saltillo, Coahuila; a 25° 22' LN y 101° 00' LO, con 1442 msnm. La zona presenta un clima clasificado: BWhw (x') (e); de muy seco a semicalido con invierno fresco, extremo; temperatura media anual de 19.8°C y una precipitación media anual de 298.5 mm (Mendoza, 1983).

#### Procedimiento Experimental

Para determinar la cinética de la digestión de la fibra de las dietas en estudio, se utilizó la técnica de digestibilidad *in vitro* de Tilley y Terry (1963) con las modificaciones de Goering y Van Soest (1970), la cual se interrumpió a diferentes tiempos de incubación (4, 8, 12, 24, 36 y 48 h) y se

analizó FDN a las dietas utilizadas y cada uno de los respectivos residuos de la fermentación.

### **Dietas experimentales**

Las raciones experimentales se presentan en el Cuadro 3.1. Éstas se formularon para contener la siguiente composición aproximada: ENm/kg, 2.034 Mcal; ENg/kg, 1.382 Mcal; PC, 17.1%; FDN, 15.4%; extracto etéreo, 2.6%; cenizas, 7.9%; Ca, 0.69%; P, 0.37%; y K, 0.77%. El contenido estimado de carbohidratos no estructurales (CNE) fue de 57%. El contenido de sal de las raciones con bicarbonato de sodio fue reducido considerando su aporte de sodio a la ración.

**Cuadro 3.1 Dietas suplementadas con levadura (L) y/o bicarbonato (B), utilizadas en el estudio.**

Ingredientes	Tratamiento			
	SL/SB	CL/SB	SL/CB	CL/CB
<b>Sorgo, entero</b>	681	680.9	679.7	679.6
<b>Pasta de soya</b>	133	133	133	133
<b>Soya, cascarilla</b>	100	100	100	100
<b>Melaza</b>	60	60	60	60
<b>Carbonato de calcio</b>	13	13	13	13
<b>Urea</b>	6	6	6	6
<b>Premezcla<sup>2</sup></b>	2	2	2	2
<b>Bicarbonato de Sodio</b>	----	----	5	5
<b>Sal</b>	5	5	1.3	1.3
<b>Levadura viva</b>	----	0.12	----	0.12

<sup>1</sup>Sorgo: 25% entero y 75% molido.

<sup>2</sup>Minerales traza, vitaminas A y E, y Lasalocid sódico (30 g/ton).

SL/SB- Sin levadura/ sin bicarbonato.

CL/SB- Con levadura/ sin bicarbonato.

SL/CB- Sin levadura/ con bicarbonato.

CL/CB- Con levadura/ con bicarbonato

### Obtención y Manejo del Líquido Ruminal

El líquido ruminal deberá obtenerse de dos novillos o borregos fistulados, tratando de tomar partes iguales de ellos. Estos animales deberán ser adaptados a una dieta con el 100 % de alfalfa henificada de buena calidad mas sal mineralizada a libertad. Se recomienda la alfalfa por ser el alimento mas adecuado y el mas fácil de obtener en el país. Deberá evitarse el uso de grandes cantidades de concentrado o ensilajes en estas raciones,

ya que el número de bacterias celulolíticas podría disminuir. Cuando la determinación se inicia por la mañana temprano, no será necesario restringir la dieta a los animales, pero si se realiza mas tarde, deberá evitarse el acceso de los animales al agua o alimento por tres horas antes del muestreo. Para obtener el liquido ruminal se quita la tapa de la cánula ruminal y con la mano se retira toda la ingesta húmeda de la parte media, si se están usando novillos se puede utilizar un bastón con un vaso de acero inoxidable soldado para facilitar esta operación. El líquido obtenido se filtra con la ayuda de un embudo provisto de cuatro capas de gasa; la ingesta se exprime y el bagazo seco se desecha. De esta manera deberán obtenerse aproximadamente tres veces el volumen necesario para la determinación. La necesidad de utilizar un termo dependerá de la distancia que haya de los corrales al laboratorio, ya que con práctica las actividades descritas pueden realizarse en 15 minutos. Deberá tenerse cuidado en que el líquido tenga contacto con el aire el menor tiempo posible. Ya en el laboratorio el líquido ruminal puede volverse a filtrar a través de ocho capas de gasa y se pasa a un frasco precalentado a 39° C en el baño maría. Se tapa el frasco y se deja reposar en el baño hasta que se separen dos capas, con una manguera y por succión se toma la parte inferior la cantidad de inculo necesaria para realizarla determinación (Llamas y Tejada, 1990).



## **Preparación del Inoculo**

El líquido ruminal se obtuvo de un novillo criollo fistulado y canulado, el cual se alimentó *ad libitum* con Soya, Sorgo, Salvadillo y Rastrojo de avena (80:20). El animal donador fue alojado en un corral para restringir su acceso al alimento y al agua 16 h antes de la extracción del fluido ruminal con el fin de evitar su dilución. Al momento de la colección se midió el pH con un potenciómetro portátil. El inoculo presentó un pH de 6.7 en promedio.

## **Análisis de los residuos de la digestión**

Las muestras de cada uno de los tratamientos en estudio fueron incubadas por triplicado, y se les analizó FDN a los remanentes de cada tiempo. Para ello, se utilizó la técnica descrita por Goering y Van Soest (1970).

### **Análisis Estadístico**

Para el análisis de la cinética de la digestión de la FDN se transformaron logarítmicamente los datos obtenidos de la fibra

potencialmente digestible (FPD) residual (%). Y se uso regresión lineal para estimar los parámetros de la digestión. Considerando el tiempo de 48 h como la extensión máxima de la digestión (fibra potencialmente indigestible, FPI) en la muestra original como FPD. La tasa de degradación se obtuvo mediante regresión de los logaritmos naturales de los residuos de FPD en cada uno de los tiempos de incubación (Grant y Mertens, 1992). Considerando la naturaleza del presente estudio se empleo un modelo de regresión lineal simple como a continuación se describe:

$$y_i = \beta x_i + \alpha + \varepsilon$$

Donde:

$\gamma_i$  = Logaritmo natural de los residuos (%) de FPD del  $i$  – esimo tiempo de incubación *in vitro*.

$\chi_i$  =  $i$  – esimo tiempo (h) de incubación *in vitro*.

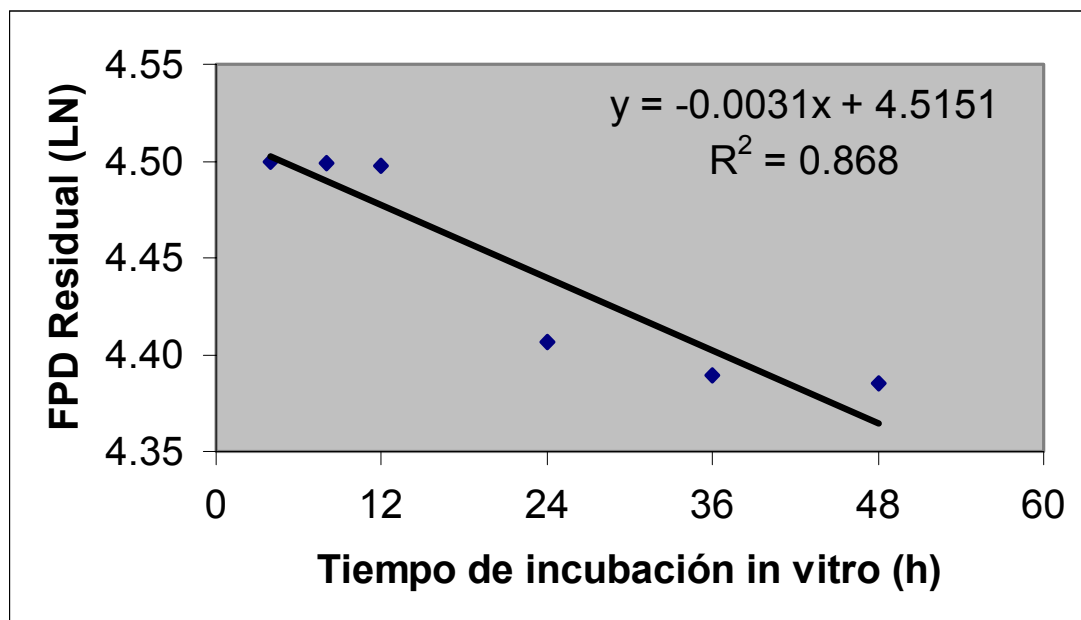
$\beta$  = Coeficiente de regresión. Tasa de degradación (Kd) de las paredes celulares (FDN) de las dietas.

$\alpha$  = Intercepción al origen.

$\varepsilon_i$  = Variable aleatoria a la cual se asume distribución normal con media cero y varianza  $\sigma^2$

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante regresión lineal de los logaritmos naturales de la fibra potencialmente digestible (FPD) a los diferentes tiempos de incubación *in vitro* se construyó el modelo para las dietas estudiadas (sin levadura sin bicarbonato (SL/SB); Con levadura sin bicarbonato (CL/SB); Sin levadura con bicarbonato (SL/CB) y Con levadura con bicarbonato (CL/CB)). En el cual  $\beta$  representa la tasa de degradación de la fibra (Figuras 4.1, 4.2, 4.3 y 4.4).



**Figura 4.1. Fibra potencialmente digestible (FPD) residual de la dieta SL/SB a diferentes tiempos de incubación *in vitro*.**

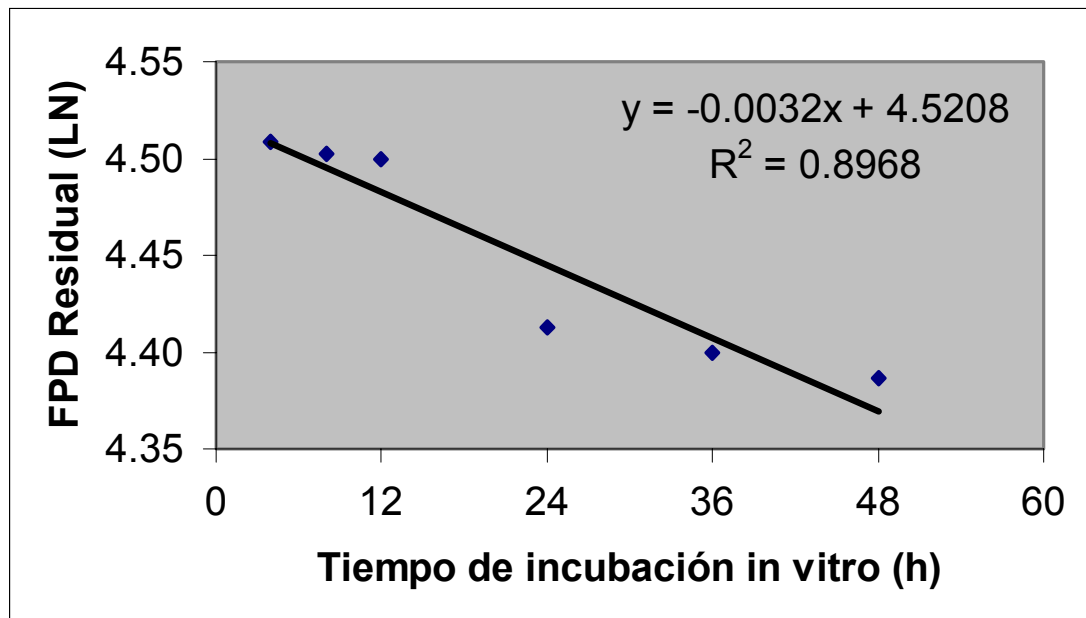


Figura 4.2. Fibra potencialmente digestible (FPD) residual de la dieta CL/SB a diferentes tiempos de incubación *in vitro*.

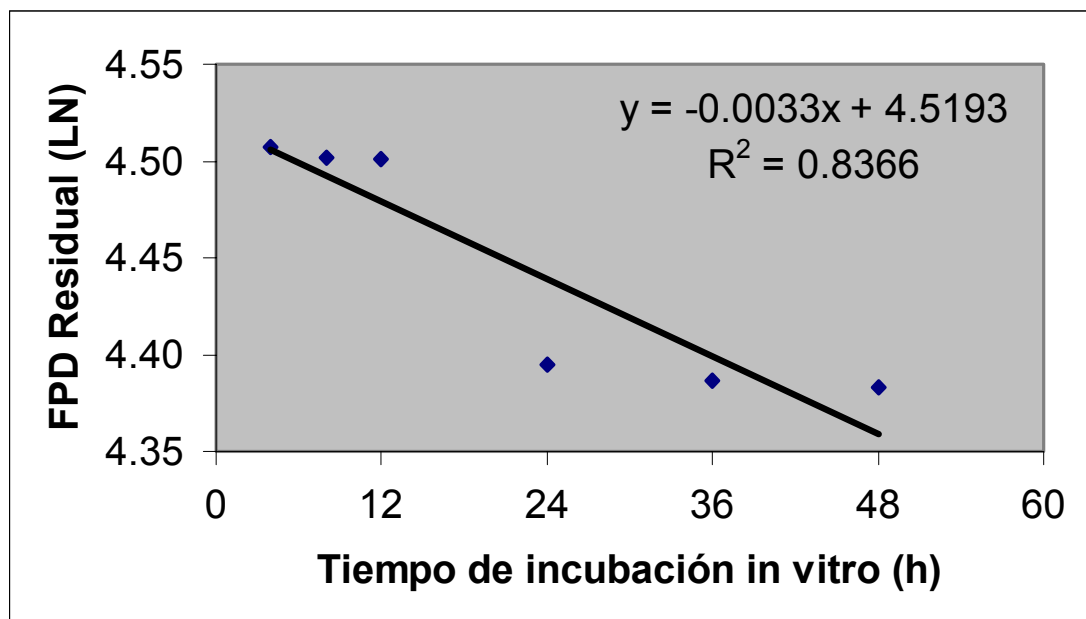
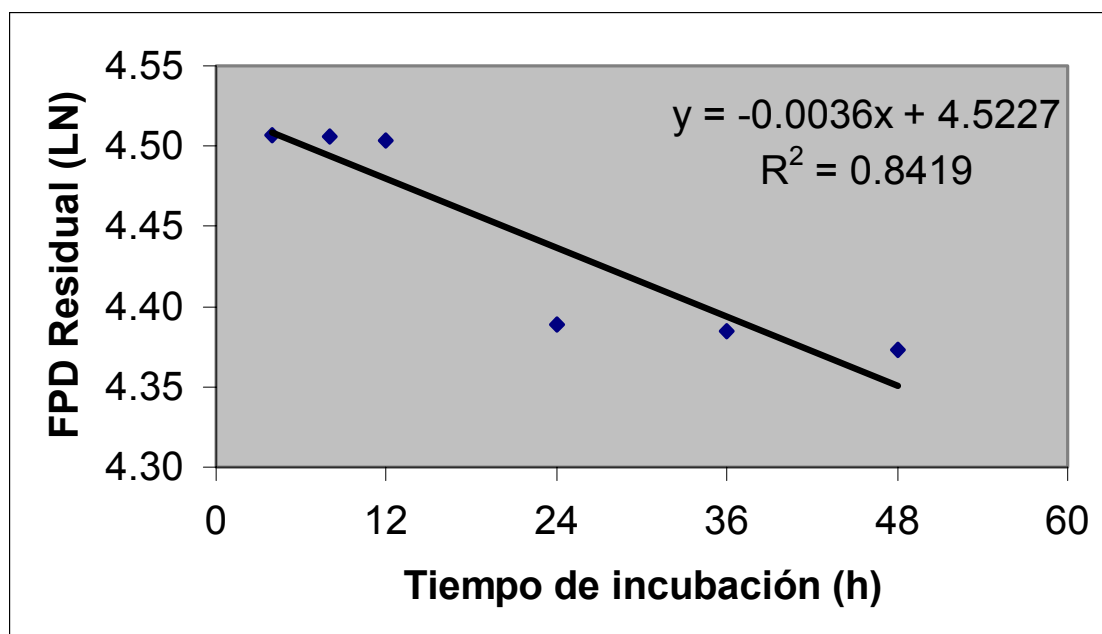


Figura 4.3. Fibra potencialmente digestible (FPD) residual de la dieta SL/CB a diferentes tiempos de incubación *in vitro*.



**Figura 4.4** Fibra potencialmente digestible (FPD) residual de la dieta CL/CB a diferentes tiempos de incubación *in vitro*.

Los resultados encontrados se presentan en el cuadro 4.1 observando una mayor tasa de degradación (kd) para la dieta CL/CB (0.36 %/h) seguido por la dieta SL/CB (0.33 %/h) posteriormente CL/SB (0.32 %/h) y por ultimo SL/SB (0.31 %/h). En comparación con estudios que se han hecho con alfalfa, Smith *et al.* (1972) y Fisher *et al.* (1989) obtuvieron una kd de 0.19 %/h el cual es bajo al compararlo con lo encontrado en las dietas de este estudio. También valores aun más bajos son reportados por Mertens y Loften (1980) (0.09 %/h) y Grant y Mertens (1992) (0.07 %/h). Los resultados del presente trabajo indican que tal vez la composición de las paredes celulares de las dietas fue afectada por la adición de levadura/bicarbonato. Existen evidencias a nivel de pruebas *in vitro* donde se demuestra que la adición de levadura incrementa la ingestión de materia

seca y aumenta la digestión de la fibra contenida en el alimento según (Wiedmeier, 1987, En cuanto al uso de los buffers se menciona que el comportamiento animal se mejora, ya que permite que el pH ruminal se mantenga mas cercano al pH optimo, así como el incremento en la digestibilidad de la fibra (Erdman, *et al.*, 1980; Rogers, *et al.*, 1982). En cuanto a su kd la dieta CL/CB fue la mejor, mientras que las tres dietas mostraron un comportamiento similar a su kd. Lo anterior nos hace pensar que las dietas SL/SB, CL/SB y SL/CB cada una en forma individual no afecta la degradación de la FDN; sin embargo, la dieta que contenía levadura y bicarbonato de sodio (CL/CB) presentó un efecto asociativo y mejoró el tiempo de degradación.

**Cuadro 4.1 Tasa de degradación de la fibra (kd) de las raciones estudiados.**

	<b>SL/SB</b>	<b>CL/SB</b>	<b>SL/CB</b>	<b>CL/CB</b>
<b>FDN (%)</b>	27.77	28.1	28.25	28.09
<b>FPI (%)</b>	8.03	8.45	8.36	7.39
<b>FPD (%)</b>	19.74	19.65	19.89	20.7
<b>KD (%/h)</b>	0.31	0.32	0.33	0.36

FDN: Fibra en detergente neutro.

FPI: Fibra potencialmente indigestible.

FPD: Fibra potencialmente digestible.

Kd: Tasa de degradación

En el cuadro 4.2 se aprecia el inicio de la degradación de las cuatro dietas, dado su contenido original de FDN, siendo éstos los siguientes: SL/SB (27.77), CL/SB (28.1), SL/CB (28.25) y CL/CB (28.09) y para las 4h ya han sufrido una degradación significativa ya que presentan una cantidad de fibra potencialmente

indigestible (FPI) de las dietas estudiadas similar 17.77, 18.88, 18.93 y 18.69 lo que quiere decir que las dietas inician muy pronto su degradación. En este sentido al compararlo con la alfalfa que es el forraje que se cuenta en todo el año Van Soest *et al.* (1966) encontraron valores altos de FPI de 36.3% al compararlos con los de este estudio tienen un mejor comportamiento por ser dietas a base de concentrados. Lo anterior también puede ser observado en el cuadro 4.3 en el cual se aprecia un porcentaje de fibra potencialmente digestible (FPD) muy similar en las cuatro dietas SL/SB (10), CL/SB (9.22), SL/CB (9.32) y CL/CB (9.4) a los 4 h de incubación. Además, en este cuadro se puede observar que las dietas estudiadas presentan un porcentaje de FPD similar de 19.74, 19.65, 19.89 y 20.7 respectivamente esto, a las 48 h tiempo al cual se considera ha ocurrido la máxima digestión.

**Cuadro 4.2 Porcentaje de fibra potencialmente indigestible de las dietas estudiados a diferentes tiempos de incubación (T.I.) *in vitro*.**

<b>T.I. (h)</b>	<b>SL/SB</b>	<b>CL/SB</b>	<b>SL/CB</b>	<b>CL/CB</b>
<b>4</b>	17.77	18.88	18.93	18.69
<b>8</b>	17.69	18.31	18.45	18.67
<b>12</b>	17.59	18.09	18.33	18.4
<b>24</b>	9.73	10.61	9.29	18.61
<b>36</b>	8.34	9.5	8.59	8.31
<b>48</b>	8.03	8.45	8.36	7.39

**Cuadro 4.3 Porcentaje de fibra potencialmente digestible de las raciones estudiados a diferentes tiempos de incubación (T.I.) *in vitro*.**

<b>T.I. (h)</b>	<b>SL/CB</b>	<b>CL/SB</b>	<b>SL/CB</b>	<b>CL/CB</b>
-----------------	--------------	--------------	--------------	--------------



<b>4</b>	10	9.22	9.32	9.4
<b>8</b>	10.08	9.79	9.8	9.42
<b>12</b>	10.18	10.01	9.92	9.69
<b>24</b>	18.04	17.49	18.96	19.48
<b>36</b>	19.43	18.6	19.66	19.78
<b>48</b>	19.74	19.65	19.89	20.7

## 5. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos se concluye lo siguiente.

La dieta SL/SB presenta una Kd de las paredes celulares más lenta, aun cuando su contenido de FDN es similar a la dieta CL/CB esto posiblemente a la ausencia de levadura y bicarbonato de sodio.

La dieta con levadura y bicarbonato de sodio CL/CB mejora el Kd de las paredes celulares.

La adición de levadura y bicarbonato de sodio mejora ligeramente el Kd. Sin embargo, el Kd mejoro hasta .5 %/h al agregar ambos aditivos a la dieta. Quizás debido a un efecto asociativo.

Evaluar dietas altas en concentrado mediante un modelo de regresión lineal para obtener su Kd, es muy sencillo y nos ayuda a comprender mejor lo que pasa con el alimento durante su paso por el tracto digestivo.

## 6. RESUMEN

Dado que las dietas a base de concentrados son importantes en la alimentación de los rumiantes, debido al bajo valor de nutrientes en épocas desfavorables es necesaria la suplementación de aditivos que mejoren la alimentación. La digestibilidad es uno de los factores más importantes que determinan la tasa de degradación y su estimación nos permite planear el uso mas adecuado de los concentrados al momento de realizar los programas de alimentación.

El objetivo de este trabajo fue evaluar dietas altas en concentrado adicionadas con levadura y bicarbonato de sodio, a través de la tasa de degradación de la FDN.

Para la determinación de la cinética de la digestión de la fibra de las dietas en estudio, se utilizó la técnica de digestibilidad *in vitro*, interrumpida a diferentes tiempos de incubación. Las dietas estudiadas fueron SL/SB, CL/SB, SL/CB y CL/CB (S =sin, C = con, L = levadura, B = bicarbonato de sodio). Las muestras fueron incubadas por triplicado y a

los remanentes de cada tiempo, se les analizó FDN. Se uso el modelo de cinética descrito por Grant y Mertens (1992).

Se encontró una Kd baja para la dieta SL/SB (0.31 %/h), comparada con la dietas CL/SB (0.32 %/h), SL/CB (0.33 %/h) y CL/CB (0.36 %/h), así como una fermentación similar a la dietas en el mismo orden de aparición (10, 9.22, 9.33 y 9.4 % FPD a los 4 h de incubación *in vitro*).

Se concluye que la dieta CL/CB presenta una Kd más rápida aun cuando su contenido de FDN es mayor esto posiblemente por la adición de levadura y bicarbonato de sodio.

Los resultados sugieren que si existe influencia de la suplementación de levadura y bicarbonato de sodio sobre la tasa de degradación de la fibra de dietas para borregos, y que existe un efecto asociativo benéfico de dichos aditivos.

## 7. LITERATURA CITADA

- Arambel, M.S., M.S., R.D. Wiedmeier, D.H. Clark, R.C. Lamb, R.L. Doman y J.L. Walters. 1988. Effect of sodium bicarbonate and magnesium oxide in an alfalfa-based total mixed ration fed to early lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 71:159.
- Barton, f .e.; H. E.Amos ; D. Burdick and R.L. Wilson.1976. Relationship of chemical analysis to in vitro digestibility for selected tropical and temperate grasses. *J . Anim. Sci.* 43: 504.
- Boeto, G. C. Y O. E Melo. 1990. Digestión ruminal del almidón en bovinos. I. Efecto del tipo de grano. II. Efecto del tratamiento físico. Informe de Beca CONICOR. *J Agro. Sci. Camb.* 51: 95-100.
- Borroughs, w.; p. gerlaugh; B. H.Edgington and R.M. Bethke. 1949. The influence of corn starch upon roughage digestion in cattle. *J.Anim. Sci.* 8: 271.
- Depeters, E.J., A.H. Freeden, D.L. Bath, y N.E. Smith.1984. Effects of sodium bicarbonate addition to alfalfa hay based diets on digestibility of dietary fractions and rumen characteristics. *J. Dairy Sci.* 67: 2344.
- Deinum, B., A. J Van Es , and P. J. Van Soest. 1968. Climate, nitrogen and grass. II. The influence on in vivo digestibility of grass and the prediction of these effects from some chemical procedures. *Netherlands J. Agr. Sci.* 16: 1217.
- Donefer, E., E. W. Crampton and L. E. Lloyd. 1960. Prediction of the nutritive value index of a forage from in vitro rumen fermentation. *J. Anim. Sci.* 19: 545.

- Erdman, R.A. Botts, R.W. Hemken, y L.S. Bull. 1980. Effects of dietary sodium bicarbonate and magnesium oxide on production and physiology in early lactation. J. Dairy Sci. 63: 923.
- Erdman, R.A., R.W. Hemken y L.S. Bull. 1982. Sodium bicarbonate and magnesium oxide for early postpartum lactating dairy cows: Effects on production, acid-base metabolism and digestion. J. Dairy Sci. 63:923.
- English, J.E., T.J. Frank, D.G. Braund, and J.E. Nocek. 1983. Influence of buffering early lactation rations with sodium bicarbonate and magnesium oxide and subsequent withdrawal or addition effects. J. Dairy Sci. 66:505
- Ensminger M. E; J.E. Oldfield and W.W Heinneman. 1990. Feeds an Nutrition. 2° Edition. Ed. The Ensminger Publishing Company.
- Fisher, D. S. ; J. C. Burns and K. R. Pond. 1989. kinetics of in vitro cellulose disappearance and in vitro digestion. Agron. J. 81: 25.
- Goering, H. K. and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analyses. USDA. Handb. No. 379. U.S. Government Printing Office. Washington, D.C.
- Gill, S. S. ; H. R. Conrad and J. w. Hibbs. 1969. Relative rate of in vitro cellulose disappearance as a possible estimator of digestible dry matter intake. J. Dairy SCI. 52: 1687.
- Grant, R. J. and D. R. Mertens. 1992. Impac of in vitro fermentation techniques upon kinetics of fiber digestion. J. Dairy Sci. 75: 1263.
- Hoover, W. H.1986. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. J. Dairy Sci. 69: 2755.
- Kempton, T. J. 1980. El uso de la bolsa de nylon para caracterizar el potencial de degradabilidad de alimentos para el rumiante. Prod. Anim. Trop. 5: 115-126.
- Kilmer, L.H., L.D. Muller and T.J. Snyder. 1981. Addition of sodium bicarbonate to rations postpartum dairy cows. J. Dairy Sci. 64:2357.

- Llamas, G. Y I. Tejada. 1990. Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Forrajes para Rumiantes. En: Catellanos, R. A. ; L. G. Llamas y S. A. Shimada.(Eds.). Manual de técnicas de investigación en Rumiología. Sistemas de educación continua en producción Animal. A.C.México, D. F.
- Martin, S.A. and D. J. Nisbet, 1992. Effect of directed microbial fermentation. J. Dairy Sci. 75:1736.
- Mertens, D.R. (1987) J. Anim. Sci. 64, 1548.
- Mertens, D.R. and J.R. Loften. 1980. The effect of starch on forage fiber digestion Kinetics *in vitro*. J.Dairy Sci. 63 : 1437.
- Mendoza, H. J. M. 1983. Boletín meteorológico para la zona de influencia de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. U.A.A.A.N. Buenavista, saltillo, Coahuila, México.
- Offer, N.W.1990. Maximizing fiber digestion in the rumen: the role of yeast culture. In Biotechnology in the Feed Industry ed T.P. Lyons. Alltech Technical Publications, Nicholasville, Kentucky.pp.79.
- Orskov, E.R. 1982. Protein Nutrition in Ruminants. 1 Ed. New York, New York, Academic Press, Inc. 160 p., U.S.A.
- Orskov. E.R.; F.D. DeB Hovell y F. Mould. 1980. Uso de la técnica de la bolsa de nylon para la evaluación de los alimentos. Producción Animal Tropical. 5:213-233.
- Okeke. G.C., J.G. Buchman-Smith y D.G. Grieve. 1983. Effect of sodium bicarbonate on rate to passage end degradation of soybean meal in postpartum dairy cows. J. Dairy Sci. 66:1023.
- Pezo, D.A. 1990. Medición de las Tasas De Degradación Ruminal en Alimentos. Nutrición de Rumiantes. Guía Metodológica de Investigación. ALPA, RISPAL, la. Ed. IICA. San José, Costa Rica. pp. 115-126.

- Rodríguez, H. 1968. The in vivo bag technique in digestibility studies. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 2:285.
- Rogers, J.A., L.D. Muller, C.L. Davis, W. Chalupa, D.S. Kronfeld, L.F. Karcher y K.R. Cummings. 1982. Response of dairy cows to sodium bicarbonate and / or limestone in early lactation. 1. Milk production and feed parameters. *J. Dairy Sci.* 65 (Suppl.1):113 (Abstr.).
- Rogers, J.A., B.C. Marks, C.L. Davis and J.H. Clark. 1979. Alteration of rumen fermentation in steers by increasing rumen fluid rate with mineral salts. *J. Dairy Sci.* 62:1599
- Russel, J.B. and D.B. Dombrowski. 1980. Effect of pH on the efficiency of growth by pure cultures of rumen bacteria in continuous culture. *Appl. Environ. Microbiol.* 39:604.
- Snyder, T.J., J.A. Rogers, L.D. Muller. 1983. Effects of 1.2% sodium bicarbonate with two rations or corn silage: grain on milk production, rumen fermentation and nutrient digestion by lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 66:1290.
- Schofield P.; R.. E. Pitt and A. N. Pell. 1994. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. *J. Animal Sci.* 7: 2980-2991.
- Smith, L.W. ; H. K. Georing and C. H. Gordon.. 1972. Relationships of forage compositions with rates of cell wall digestion and indigestibility of cell walls. *J. Dairy Sci.* 55: 1140.
- Tilley, J. M. A. And R. A. Terry. 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J. Brit. Grassld. Soc.* 18: 104.
- Van Soest P. J; J. B. Robertson and B. A. Lewis. 1991. Symposium: carbohydrate, methodology, metabolism and nutritional implications in Dairy Cattle. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.



- Van Soest, P.J. 1975. Digestion and Metabolism in the Ruminant. Ed. I.W. Mc Donald y A.C.I. Warner, Univer. N. England. Pub. United, Australia.
- Van Soest, P.J. ; R. H. Wine and L. A. Moore. 1966. Estimation of the true digestibility of forages by the in vitro digestion of cell walls. Proc. X Int. Grassland Congr., Helsinki, Finland. Sec. 2, p. 20:438
- Wiedmeier, R. D., M. J. Arambel, and C.J. Walters, 1987. Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. J. Dairy Sci. 70:2063.
- Wilkins, R. J. 1969. The potential digestibility of cellulose in forage and feces. J. of Agricultural Science. Cambridge. 57:73., U.S.A.
- Williams, V. J. ; M. C. Rottle ; R. J. Moir and E. J. Underwood. 1953. Ruminal floral studies in the sheep. IV. The influence of varying dietary levels of protein and starch upon digestibility, nitrogen retention, and the free microorganisms of the rumen. Australian J. Biol. Sci. 6: 142.
- Wheeler, W.E., C.H. Noller and J.L. White. 1981. Effect of level of calcium and sodium bicarbonate in high concentrate diets on performance and nutrient utilization by beef steers. J. Anim. Sci. 53:499.