

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE CIENCIAS AGRICOLAS



**“INFLUENCIA DE UNA ENZIMA FIBROLÍTICA SOBRE LA SUSTITUCIÓN DE
HENO DE ALFALFA POR ENSILAJE DE MAÍZ EN UNA DIETA PARA
GANADO LECHERO”**

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
EN SISTEMAS DE PRODUCCION ANIMAL

PRESENTA

ABRIL BASILIO NAVARRETE

DIRECTOR DE TESIS

Ph D. ENRIQUE G. ALVAREZ ALMORA

MEXICALI, B.C. MÉXICO

JUNIO, 2014

La presente tesis “**INFLUENCIA DE UNA ENZIMA FIBROLÍTICA SOBRE LA SUSTITUCIÓN DE HENO DE ALFALFA POR ENSILAJE DE MAÍZ EN UNA DIETA PARA GANADO LECHERO**” realizada por la **C. Abril Basilio Navarrete**, dirigida por el **Dr. Enrique Gilberto Álvarez Almora**, ha sido evaluada y aprobada por el Consejo Particular abajo indicado, como requisito parcial para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias en Sistemas de Producción Animal

Consejo particular

Dr. Enrique Gilberto Álvarez Almora
Director de Tesis

Dra. Noemi Gpe. Torrentera Olivera
Secretario

Dr. Jesús Santillano Cázares
Sinodal

Dr. David Calderón Mendoza
Sinodal

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a Dios por la vida, la fortaleza, todos los cuidados, por su guía y darme el privilegio de finalizar esta fase profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo financiero otorgado para culminar el presente posgrado.

A la Universidad Autónoma de Baja California - Instituto de Ciencias Agrícolas, por abrirme las puertas y brindarme la oportunidad de seguir creciendo, tanto en el ámbito académico como personal.

A mi asesor, en Dr. Enrique G. Álvarez Almora por permitirme formar parte de su lista de asesorados, por todo el apoyo y tiempo ofrecido, sus enseñanzas, sus consejos pero sobre todo por su amistad brindada. ¡Muchas gracias Doc!

A todos y cada uno de los profesores del Instituto que contribuyeron en gran medida en mi formación durante este periodo de estudios.

A Sandrita por su linda amistad, guía, apoyo, consejos y paciencia hasta hoy en día, en esta apreciada Institución.

A todos mis queridos compañeros de posgrado, pero de manera especial a mis manitos: los Martínez, Bill, Sam, Eudor, Key, Sandra y Adylene, por su atesorada amistad, motivación y todo su apoyo durante mi estadía en la Universidad.

DEDICATORIA

Con todo mi corazón les dedico este estudio de investigación a las tres personas más importantes de mi vida:

A mi hermosa y admirable mamá, Laura Navarrete Bárcenas, por su inagotable amor, sus sabios consejos y apoyo que me han fortalecido e impulsado a ser la persona que soy hoy en día. ¡Gracias mamá!

A mi compañero, mi amigo y mi amor, Martín A. Cisneros Estrada, por estar siempre a mi lado brindándome su apoyo, comprensión, consejos y amor día con día. ¡Gracias mi amor!

A mi linda hermanita, S. Getsemaní Villalobos Navarrete, por su inmensa ternura y alegría que me logra transmitir con el simple hecho de escuchar su tierna voz.

CONTENIDO

	Pág.
LISTA DE CUADROS.....	i
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
I. INTRODUCCIÓN.....	3
II. HIPÓTESIS.....	5
III. OBJETIVOS.....	5
IV. REVISION DE LITERATURA.....	6
4.1. Valor nutricional del ensilaje de maíz.....	6
4.2. Factores que inciden en la composición química del maíz forrajero antes y después de ensilar.....	7
4.2.1. <i>Fertilización</i>	8
4.2.2. <i>Edad de corte</i>	8
4.2.3. <i>Variedad</i>	9
4.2.4. <i>Altura de corte</i>	9
4.3. Digestión del ensilaje de maíz y heno de alfalfa.....	10
4.3.1. <i>Digestión en rumen</i>	10
4.3.2. <i>Digestión post-ruminal</i>	10
4.3.3. <i>Digestión total</i>	11
4.4. Estimadores característicos de la fermentación ruminal con ensilaje de maíz y heno de alfalfa.....	12
4.4.1. <i>Cambios en el pH</i>	12
4.4.2. <i>Concentración y producción total de ácidos grasos volátiles</i>	12
4.5. Utilización de enzimas fibrolíticas sobre la fermentación ruminal.....	13
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
5.1. Localización.....	15
5.2. Unidades experimentales.....	15
5.3. Desarrollo experimental.....	16
5.4. Colección de muestras.....	17

5.5. Análisis de laboratorio.....	19
5.6. Análisis estadístico.....	20
5.7. Prueba de metabolismo y digestión.....	21
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
VII. CONCLUSIONES.....	37
VIII. LITERATURA CITADA.....	38

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1 Composición química en ensilajes de maíz y heno de alfalfa.....	7
2 Digestión ruminal de nutrientes en bovinos alimentados con ensilajes de maíz y heno de alfalfa.....	10
3 Digestión post-ruminal de nutrientes en bovinos alimentados con ensilaje de maíz y heno de alfalfa	11
4 Digestión total de nutrientes en bovinos alimentados con ensilaje de maíz y heno de alfalfa	11
5 Procedimiento de secado en horno de microondas.....	18
6 Composición porcentual de las dietas ofrecidas durante el experimento (Base Seca).....	24
7 Composición química de las dietas ofrecidas durante el experimento (Base Seca).....	25
8 Consumo de novillos alimentados a base de ensilaje de maíz y heno de alfalfa.....	25
9 Flujo de nutrientes a duodeno en novillos alimentados a base de ensilaje de maíz y heno de alfalfa.....	28
10 Digestión ruminal (%) y eficiencia del N en novillos alimentados a base de ensilaje de maíz y heno de alfalfa.....	29
11 Digestión post-ruminal (%) en novillos alimentados a base de ensilaje de maíz y heno de alfalfa.....	32
12 Digestión total (%) en novillos alimentados a base de ensilaje de maíz y heno de alfalfa.....	33
13 Características de la fermentación ruminal en novillos alimentados a base de ensilaje de maíz y heno de alfalfa.....	35
14 Contenido ruminal y tasa de pasaje en novillos alimentados a base de ensilaje de maíz y heno de alfalfa.....	36

RESUMEN

Cuatro novillos de la cruce Holstein x Cebú (180 kg) habilitados con fístulas en rumen y duodeno proximal fueron utilizados en un Diseño de Cuadro Latino 4 x 4 para evaluar la sustitución de heno de alfalfa por ensilaje de maíz y la adición de una enzima fibrolítica sobre la función digestiva, la degradación de la fracción fibrosa y la digestibilidad del almidón. Se implementaron cuatro tratamientos: 1) ensilaje de maíz (EMZ) + dieta basal (DB) + 15 g de enzima fibrolítica, EMZE, 2) EMZ + DB sin enzima, EMZ0, 3) heno de alfalfa (HAL) + DB + 15 g de enzima fibrolítica, HALE, y 4) HAL+ DB sin enzima, HAL0. La sustitución de heno de alfalfa por ensilaje de maíz aumentó ($P < 0.05$) la digestión en rumen de la MO, FDN, FDA y celulosa, pero provocó una menor eficiencia microbial y degradación del N en rumen. La enzima fibrolítica no influyó ($P > 0.05$) sobre la digestión en rumen de ninguno de los componentes de la dieta. Las dietas a base de ensilaje de maíz presentaron menor ($P < 0.05$) degradación post-ruminal del almidón. La enzima fibrolítica, independientemente del tipo de forraje, incrementó ($P < 0.05$) la degradación post-ruminal de la FDN. La sustitución de heno de alfalfa por ensilaje de maíz presentó mayor ($P < 0.05$) digestión total de la MO y la celulosa, 3.6% y 10.4%, respectivamente; pero, no influyó sobre la digestión total de la energía. Aunque no se encontraron diferencias en el pH en rumen, fue mayor la producción de propionato (18.4%; $P < 0.05$) en los novillos alimentados con ensilaje de maíz. La sustitución de heno de alfalfa por ensilaje de maíz y la adición de una enzima fibrolítica no influyeron sobre la utilización de los principales componentes en el rumen y la digestión total, solo presentaron una mayor digestión en tracto bajo.

ABSTRACT

Four Holstein x Cebu crosses steers (180 kg) with ruminal and duodenal fistulas were used in a 4 x 4 Latin Square Design to evaluate the substitution of alfalfa hay and corn silage from the addition of a fibrinolytic enzyme on the digestive function, the degradation of the fibrous fraction and starch digestibility. Four treatments were implemented: 1) corn silage (EMZ) + Basal Diet (DB) + 15 g of fibrinolytic enzyme, EMZE, 2) EMZ + DB without enzyme EMZ0, 3) Alfalfa hay (HAL) + DB + 15 g of fibrinolytic enzyme, HALE, y 4) HAL+ DB without enzyme, HAL0. Substitution of alfalfa hay by corn silage increased ($P < 0.05$) ruminal digestion of OM, NDF, ADF and cellulose, but resulted in a lower microbial N efficiency and degradation in rumen. The XLN not affect ($P > 0.05$) in rumen digestion of any component of the diet. Diets based on corn silage had lower ($P < 0.05$) postruminal starch degradation. Fibrinolytic enzyme, regardless of the type of forage, increased ($P < 0.05$) post-ruminal degradation of NDF. Substitution of alfalfa hay by corn silage had higher ($P < 0.05$) total digestion of OM and cellulose, 3.6% and 10.4%, respectively; but, not influenced total energy digestion. Although no differences in pH were found in rumen was greater of propionate production (18.4%, $P < 0.05$) in steers fed corn silage. The substitution of alfalfa hay and corn silage by the addition of a fibrinolytic enzyme did not influence the use of the main components in the rumen and total digestion, only had a higher low digestion tract.

I. INTRODUCCIÓN

En el Valle de Mexicali, se siembran aproximadamente 40,000 ha de alfalfa con una producción anual alrededor de 800 mil toneladas. Sin embargo, un factor que limita su utilización es su elevado requerimiento de agua, con frecuencia es necesaria una lámina de riego de hasta 197 cm, en una región en la que cada día es un recurso más limitado, por lo que los productores deben habilitarse de volúmenes adicionales de alfalfa, elevándose con ello el costo de producción (PRODUCE, 2008). Una opción viable para reducir la dependencia a la alfalfa henificada en las explotaciones lecheras de la región es el maíz forrajero, porque tiene mayor rendimiento de materia seca por hectárea, requiere menor cantidad de agua y posee un considerable valor nutritivo al contener almidón como fuente de energía y fibra altamente digestible, cuando es cosechado en el momento óptimo. La fracción fibrosa tiene tres aspectos influidos principalmente por su constitución química, tanto de gramíneas como de leguminosas en los rumiantes, la digestibilidad y su valor energético, el equilibrio del ambiente en rumen y la regulación del consumo (Mertens, 1992). Aunque se conoce que las gramíneas tienen una tasa de digestión más lenta que las leguminosas debido a su mayor porcentaje de hemicelulosa y proliferación de enlaces covalentes de esta con la lignina, comparativamente el ensilaje de maíz tiene un mayor aporte de fibra detergente neutro efectivo (eFDN), que es la fracción de mayor influencia sobre la estabilidad de la fermentación en rumen. Por el contrario la alfalfa, aunque tiene una mayor digestión en rumen, la efectividad de su componente fibroso sobre la regulación del pasaje y estabilidad funcional del rumen es menor.

Las enzimas fibrolíticas mejoran la degradación de la fibra en el rumen por su sinergismo con la capacidad hidrolítica de la flora ruminal (Morgavi *et al.*, 2000; Beauchemin *et al.*, 2004). Aunque Zinn y Salinas (1999) concluyeron que el uso de estas es más eficiente con dietas de alto valor energético, en general otros autores como Eun *et al.* (2007) consideran que la acción de las enzimas fibrolíticas es más eficaz cuando se añaden a ensilaje de maíz que al heno de alfalfa, pero estos

resultados proceden de ensilados con mayor nivel de almidón a los cosechados en la región Noroeste de México y utilizados en el presente estudio.

Por lo anterior se espera identificar un efecto diferenciado por el tipo de fibra característico de gramíneas o leguminosas y una respuesta significativa a la adición de la enzima fibrolítica en la dieta a base de ensilado de maíz en el Valle de Mexicali.

II. HIPÓTESIS

En una dieta típica para ganado lechero, debido a la mayor funcionalidad de la fibra en el rumen, la sustitución de heno de alfalfa por ensilaje de maíz no tiene influencia sobre la digestión y fermentación en rumen.

La adición de una enzima fibrolítica a una dieta basada en ensilaje de maíz permite mejorar la degradación de la fracción fibrosa, aun cuando su contenido de almidón sea inferior al utilizado en otros estudios.

III. OBJETIVOS

Evaluar la sustitución total de heno de alfalfa por ensilaje de maíz y la adición de una enzima fibrolítica sobre la función digestiva, la degradación de la fracción fibrosa y la digestibilidad del almidón en una dieta para ganado lechero ofrecida a novillos Holstein.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Valor nutricional del ensilaje de maíz

El ensilaje es un tipo de forraje conservado que se obtiene por fermentación parcial de carbohidratos solubles presentes en vegetales ricos en humedad, en los cuales se desea producir una disminución de pH para lograr su estabilización y conservación en el tiempo. Las condiciones anaeróbicas son fundamentales para un adecuado desarrollo del proceso fermentativo (McDonald, 1981; Merry *et al.*, 2000). La obtención de ensilajes de alto valor nutritivo se condiciona por una compleja interacción de factores. El resultado final del proceso conservativo se puede evaluar a través de análisis químicos, los cuales entregan información de los distintos parámetros composicionales y de calidad fermentativa involucrados (Barber *et al.*, 1996; Cherney, 2000). El valor nutricional de un ensilaje está determinado principalmente por la composición del forraje al momento de la cosecha y por las modificaciones químicas ocurridas durante el proceso de ensilado. La calidad del ensilaje como alimento siempre será inferior a la del forraje fresco que le dio origen, siendo la magnitud de ésta disminución dependiente de las medidas que se adopten para conducir el proceso de conservación técnicamente en la forma más adecuada (Elizalde, 1994 y Ruíz, 1996).

La concentración de nutrientes en el ensilaje de maíz es afectada por la cantidad de celulosa y hemicelulosa contenida en la pared celular, ya que son una fuente de energía para los rumiantes al degradarla en oligosacáridos y poligosacáridos. La disponibilidad de la celulosa como fuente de energía va a depender de su estructura general y la interacción de las propiedades de la pared celular (que a menudo varía entre especies), genotipos, el tejido y la interacción entre estos tres factores (Wolf *et al.*, 1993). La composición química de ensilajes de maíz y heno de alfalfa se presenta en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Composición química en ensilajes de maíz y heno de alfalfa.

Forraje	Nutrientes ^a							Autor
	FDN	FDA	Lig	PC	Alm	Cen	MS	
Maíz	42.20	25.80	2.60	7.40	28.00	3.70	26.60	Ballard <i>et al.</i> , (2001)
Maíz	41.10	26.60	2.34	7.76	31.60	4.04	33.50	Qiu <i>et al.</i> ,(2003)
Maíz	52.00	37.40	-	8.60	-	9.00	24.10	Kowsar <i>et al.</i> , (2008)
Maíz	58.90	34.30	3.00	7.70	19.40	-	29.00	Calberry <i>et al.</i> , (2003)
Alfalfa	57.40	34.30	6.90	16.90	11.80	-	87.30	Calberry <i>et al.</i> , (2003)
Alfalfa	49.90	35.40	-	17.30	-	-	92.00	Eun y Beauchemin (2007)
Alfalfa	41.40	31.60	-	16.20	-	10.20	85.90	Broderick (1994)
Alfalfa	43.40	34.20	-	14.20	-	10.50	95.20	Kowsar <i>et al.</i> , (2008)

^aNutrientes: FDN=Fibra detergente neutro; FDA=Fibra detergente ácida; Lig= Lignina, PC= Proteína cruda; Alm= Almidón, Cen= Cenizas y MS= Materia seca.

4.2 Factores que inciden en la composición química del maíz forrajero antes y después de ensilar

La calidad del forraje es altamente variable y esto es influenciada por distintos factores como lo son variedad, fertilización, clima, edad al corte, manejo después del corte y el método de preservación que se utilice. De estos elementos mencionados anteriormente, algunos de ellos pueden ser controlados para lograr una mejor calidad del forraje.

4.2.1 Fertilización

Como otros nutrientes, el nitrógeno es esencial para el desarrollo y crecimiento de los forrajes, por las respuestas positivas en el rendimiento de materia seca. Sin embargo se ha visto que el exceder la dosis de nitrógeno requerida por la planta no muestra aumento significativo en la producción de MS (Sheafer *et al.*, 2006). Como es de esperarse al incrementar los niveles de N también aumenta la concentración de proteína cruda y la digestibilidad in vitro en toda la planta, pero esta tendencia no es tan consistente como los cambios en la concentración de FDN (Cox y Cherney, 2001). Resultados similares reporta Sheafer *et al.* (2006) en plantas de maíz donde al incrementar los niveles de nitrógeno no se encuentran efectos significativos en las variables antes mencionadas, excepto en el contenido de PC.

4.2.2 Edad de corte

La edad de corte de la planta por cualquier método de conservación es crítica, ya que determina el rendimiento de MS y la calidad nutritiva del material ensilado. El contenido de humedad no se puede determinar exactamente usando la línea de leche del grano, debido a la variación del tiempo y los híbridos. Es recomendable que el contenido de humedad se mida en lugar de ser estimado. Sin embargo es muy común que se estime observando la línea de leche del grano. En el caso de maíz para ensilar, estudios agronómicos han demostrado que cosechar cuando el grano del elote se encuentra en $2/3$ de la línea de leche aumenta la producción de MS (Ganoë y Roth, 1992). Algunos autores aseguran que este rendimiento aumenta cuando los cortes se efectúan en un estado de madurez avanzado. La digestibilidad de la materia seca, proteína cruda y fibra disminuye considerablemente cuando las plantas son cosechadas a una edad madura. Al cosechar el forraje a una temprana edad este posee altas concentraciones de fibra lo que disminuye la cantidad de energía (Hunt *et al.*, 1989) pero también al cosechar en un estado de madurez avanzado baja la digestibilidad de hoja y tallo

debido al incremento en el contenido de lignina de 4.4 a 18.0% (Farías *et al.*, 1987).

4.2.3 Variedad

El desarrollo de variedades que mantengan un alto nivel de rendimiento y contenido nutricional, constituye una de las metas más importantes en la mayoría de los programas de mejoramiento. Cada variedad tiene ventajas sobre otras así como desventajas, estas se comportan según para las condiciones medioambientales para las que son desarrolladas y su objetivo de producción (grano, forraje, mixto). La variedad a sembrar para una buena cosecha de forraje la debe determinar las características de la región.

4.2.4 Altura de corte

Se han realizado varios estudios para evaluar que ventajas o desventajas se obtienen al incrementar la altura de corte de la planta al momento de ensilar. Wu y Roth (2005) reportan que una altura de corte alta (50 cm) eleva la concentración de nutrientes en plantas de maíz al momento de ensilar y la digestión de FDN, en comparación a una altura baja de corte (17 cm).

4.3 Digestión del ensilaje de maíz y heno de alfalfa

4.3.1 Digestión en rumen

El concepto de digestibilidad, está relacionado al paso del forraje por el rumen, a una mayor digestibilidad se aumenta la tasa de paso por el rumen, y en consecuencia se aumenta el consumo. El rumiante necesita de la fibra de la ración, tanto de su calidad como de cantidad, esta calidad está dada en parte por su grado de digestibilidad, a nivel ruminal. En el Cuadro 2 se muestra la digestión ruminal de nutrientes en bovinos alimentados con ensilaje de maíz y heno de alfalfa.

Cuadro 2. Digestión ruminal de nutrientes en bovinos alimentados con ensilaje de maíz y heno de alfalfa.

Forraje	Nutrientes					Autores
	MO	FDN	FDA	N	Almidón	
Maíz	41.0	36.0	-	-	60.7	Oba y Allen (2000)
	33.1	32.3	23.2	72.0	37.3	Greenfield <i>et al.</i> (2001)
	63.1	26.8	-	74.4	78.7	Qiu <i>et al.</i> (2003)
Alfalfa	52.1	40.3	41.3	51.0	-	Yang <i>et al.</i> (2002)
	55.3	43.4	42.6	56.0	-	Kowsar <i>et al.</i> (2008)

MO: Materia orgánica, FDN: Fibra Detergente Neutro, FDA: Fibra Detergente Ácido, N: Nitrógeno.

4.3.2 Digestión post-ruminal

Algunos autores coinciden al mencionar que la digestión post-ruminal puede tener efectos compensatorios de la digestión ruminal (Aydin *et al.*, 1999; Oba y Allen 2000), donde han encontrado que cuando la digestión ruminal es baja la post-ruminal aumenta y viceversa. En el Cuadro 3 se observa la digestión post-ruminal de nutrientes en novillos alimentados con ensilaje de maíz y heno de alfalfa.

Cuadro 3. Digestión post-ruminal de nutrientes en novillos alimentados con ensilaje de maíz y heno de alfalfa.

Forraje	Nutrientes				Autores
	MO	FDN	N	Almidón	
Maíz	30.5	12.2	79.5	38.6	Oba y Allen (2000)
	26.8	9.8	57.1	13.4	Qiu <i>et al.</i> (2003)
	29.0	12.5	62.4	16.4	Qiu <i>et al.</i> (2003)
Alfalfa	29.3	11.3	61.9	-	Yang <i>et al.</i> (2002)

MO: Materia orgánica, FDN: Fibra Detergente Neutro, FDA: Fibra Detergente Ácido, N: Nitrógeno.

4.3.3 Digestión total

En el Cuadro 4 se presenta la digestión total de nutrientes en bovinos alimentados con ensilaje de maíz y heno de alfalfa.

Cuadro 4. Digestión total de nutrientes en bovinos alimentados con ensilaje de maíz y heno de alfalfa.

Forraje	Nutrientes						Autores
	MS	MO	FDN	FDA	N	Almidón	
Maíz	65.8	67.0	42.2	-	67.2	88.7	Weiss y Wyatt (2002)
	68.7	70.3	42.1	-	70.7	93.7	Oba y Allen (2000)
	67.8	-	54.4	52.7	62.6	-	Bernard <i>et al.</i> (2002)
	70.1	71.7	52.4	45.6	72.9	97.0	Greenfield <i>et al.</i> (2001)
Alfalfa	75.6	76.6	68.1	61.9	76.0	-	Kowsar <i>et al.</i> (2008)
	-	66.5	51.6	53.2	64.5	-	Yang <i>et al.</i> (2002)

MS: Materia Seca; MO: Materia orgánica, FDN: Fibra Detergente Neutro, FDA: Fibra Detergente Ácido, N: Nitrógeno.

4.4 Estimadores característicos de la fermentación ruminal con ensilaje de maíz y heno de alfalfa

4.4.1 Cambios en el pH

El pH es uno de los factores más variables del ambiente ruminal, es afectado por la naturaleza del alimento, forma física del mismo, frecuencia de la ingesta, etc. (Church, 1993). Sobre esto operan los mecanismos fisiológicos que regulan el pH, siempre y cuando no se excedan los límites fisiológicos, como la rumia, que genera una gran cantidad de saliva que actúa con un efecto tampón, la rápida absorción de los ácidos grasos volátiles (AGV) y el eructo. Varios estudios han demostrado que la efectividad del crecimiento de las bacterias predominantes en el rumen varía considerablemente con el pH. Las bacterias celulolíticas y las metanogénicas son afectadas una vez que el pH del rumen desciende por debajo de 6.0. Como también son afectados los protozoarios por el descenso de pH determinado por un consumo excesivo de concentrados en la dieta (Forsberg *et al.*, 1984).

4.4.2 Concentración y producción total de ácidos grasos volátiles

Los ácidos grasos volátiles (AGV) son compuestos de cadena carbonada corta que se producen durante la degradación fermentativa de los alimentos en el rumen. Son los productos de desecho del metabolismo anaeróbico de los microorganismos. Si se permitiera la acumulación de los AGV, estos suprimirían o alterarían el proceso fermentativo al disminuir el pH del retículo-rumen. Sin embargo, el rumiante mantiene las condiciones para la fermentación al amortiguar los cambios de pH y al eliminar los AGV del retículo-rumen por absorción de los mismos. La producción y concentración de estos en el rumen dependen de, la composición de la ración, la actividad microbiana, el pH, frecuencia de ingestión de alimentos y la velocidad con la que los ácidos son absorbidos a través de la pared ruminal (Bath *et al.*, 1965). Esto es debido a cambios en el equilibrio químico del medio ambiente ruminal y las concentraciones de AGV en el rumen,

son reguladas por un balance entre producción y absorción. Van Soest (1994) menciona que las proporciones relativas de los AGV varían con la dieta, encontrando que el ácido acético predomina en la mayoría de las condiciones, pero siempre se encuentran cantidades sustanciales de ácidos propiónico y butírico.

La producción de propionato se aumenta cada vez más al dar mayor cantidad de concentrados, la proporción molar de este ácido varía entre el 15 y 19 %, nunca es mayor que la producción de acetato. La alimentación con concentrados, además de cambiar las proporciones de los distintos AGV, aumenta considerablemente la producción total de AGV. La concentración de ácido propiónico en rumen varía entre 30-34 % cuando se suministran dietas de ensilajes de maíz convencional (Aydin *et al.*, 1999; Dann *et al.*, 2008).

4.5 Utilización de enzimas fibrolíticas sobre la fermentación ruminal

La suplementación de las dietas de vacas lecheras y ganado de engorda con enzimas fibrolíticas tiene un potencial significativo para mejorar la utilización de alimento y comportamiento animal. Aditivos enzimáticos para alimentos de ruminantes, principalmente xilanasas y celulasas, son extractos concentrados resultantes a partir de fermentaciones bacterianas o fúngicas que tienen actividades enzimáticas específicas. Los dos factores más limitantes que afectan a la velocidad de la digestión ruminal de la fibra son el pH y las interacciones físico-químicas entre los constituyentes de la pared celular (Russell y Wilson, 1996).

El pH ruminal afecta a la digestión de la fibra a través de su influencia en las tasas de crecimiento específico de bacterias celulolíticas. El crecimiento de bacterias celulolíticas es óptimo en un pH ruminal mayor que 6.5. Entre un pH de 6.5 a 6.0, la tasa de crecimiento específico disminuye 14% por hora por cada disminución de 0.1 unidades en el pH ruminal. Las bacterias celulolíticas no crecen a pH ruminal por debajo de 6.0. Esta toxicidad se debe aparentemente a la incapacidad de las bacterias celulolíticas para regular las concentraciones de aniones intracelulares a un menor pH ruminal (Russell y Wilson, 1996).

Además de las tasas de crecimiento específicas de bacterias celulolíticas, la disponibilidad (o accesibilidad) de sustrato para el proceso es también una limitación importante para la tasa de digestión de la fibra. Las fibrillas de celulosa se encuentran unidas en una matriz de hemicelulosa, lignina, pectinas, y extensinas. En particular, las interacciones físico-químicas de hemicelulosa y lignina con celulosa presentan una barrera formidable para el proceso de las bacterias celulolíticas (Hatfield, 1993). Las deficiencias en enzimas fibrolíticas ruminales pueden ser parcialmente superadas por la suplementación de enzimas en la dieta.

Las combinaciones de enzimas de celulasa y xilanasa han mejorado *in vitro* (Feng *et al.*, 1996; Howes *et al.*, 1998) e *in vivo*, el rendimiento del crecimiento de novillos alimentados con dietas basadas en forraje (Beauchemin *et al.*, 1995), (Lewis *et al.*, 1996) y la producción de leche (Howes *et al.*, 1998).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Localización

El presente estudio se llevó a cabo en el laboratorio de digestión y metabolismo de rumiantes del Instituto de Ciencias Agrícolas (ICA) de la Universidad Autónoma de Baja California, a 50 km al sur de Mexicali, Baja California, México (32°24'44,16"N, 115°11'56,87"O), con una altitud de 12 msnm (INEGI, 2010) y temperatura y precipitación media anual de 22°C y 75.9 mm, respectivamente.

5.2 Unidades experimentales

Se utilizaron cuatro novillos de la craza Holstein x Cebú de 14 meses de edad, con un peso vivo inicial promedio de 180 kg, con fístulas en rumen y duodeno proximal. Para su fistulación los novillos fueron sometidos a un tratamiento preoperatorio en el cual se les administró 11,000 UI/kg/d (48 h) de penicilina G procaína acuosa (i.m.) (Brovel, S.A.de C.V.) y puestos en ayuno de sólidos por 24 h y 15 h de ayuno de líquidos. Para habilitar a los animales con cánulas en rumen, de acuerdo al procedimiento descrito por Álvarez et al. (2000) y cánulas tipo "T" en duodeno proximal, se indujo sedación de los novillos administrando (i.m.) 0.6 mg/kg de xilasina al 2% (Procin®). Las cánulas de duodeno se elaboraron con material de tygon inerte (USP; Lima, Oh). Los novillos permanecieron en corraletas de 3.2 m² con bebederos automáticos y comederos individuales.

5.3 Desarrollo experimental

Se evaluó la sustitución de heno de alfalfa por ensilaje de maíz y la adición de una enzima fibrolítica mediante la aplicación de los siguientes tratamientos: 1) Ensilaje de maíz + Dieta Basal (DB) + 15 g de enzima fibrolítica (Fibrozyme, Alltech, Inc.), EMZE, 2) Ensilaje de maíz + DB sin enzima, EMZ0, 3) Heno de alfalfa + DB + 15 g de enzima fibrolítica (Fibrozyme, Alltech, Inc.), HALE, y 4) Heno de alfalfa + DB sin enzima, HAL0. Después de un periodo de dos semanas de adaptación, el experimento tuvo una duración de 56 días, inició el 05 de Octubre y finalizó el 30 de Noviembre de 2012. El estudio se dividió en cuatro periodos experimentales de catorce días cada uno, los diez primeros fueron de adaptación a la dieta y los cuatro restantes para la colección de muestras. Los novillos se pesaron por la mañana 3 h post-alimentación al inicio y al final de cada periodo.

Se utilizó la variedad DAS 3361 de maíz forrajero, sembrado a 3 km del ICA el 26 de Marzo del 2012, solo después del primer riego, a los 30 días, se fertilizó con 100 kg de urea/ha y Biohumus[®] (4 L/ha/riego). En total se realizaron 5 riegos cada 15 días. El corte se realizó a una altura alrededor de 10 cm del nivel del suelo, definiéndose cuando el grano de maíz presentó un avance en 1/3 de la línea de leche y la planta aproximadamente 30% de MS.

Los ensilajes se mantuvieron en contenedores metálicos de 200 L para tener una fácil disposición del forraje. La composición de la dieta basal fue: 95.98% de MS, 22.34% de PC; 27.26% de almidón; 19.12% de FDN; 5.38% de FDA; 3.54% de celulosa; 1.31% de lignina y 8.29% de cenizas, elaborándose en una sola ocasión el total utilizado durante el experimento, para alcanzar homogeneidad en todos los periodos. Se realizó en una mezcladora con capacidad de 500 kg. Cada novillo recibió diariamente (08:00 y 20:00 h) el 2.4% de alimento en relación a su PV con una proporción dieta basal-forraje 60:40, respectivamente. Como marcador externo de la digesta se utilizó óxido de cromo (Cr_2O_3) al 0.3% del total de la materia seca, con el objetivo de mantener constante esta concentración de cromo debido a la variabilidad en el contenido de MS en los dos tipos de forrajes,

diariamente se hicieron determinaciones de MS parcial en los tratamientos a base de ensilaje de maíz, utilizando un horno de microondas con el protocolo de secado descrito en el Cuadro 5. Durante todo el experimento se tomaron muestras de las dietas ofrecidas, tanto de forraje como de la dieta basal, las cuales fueron secadas y molidas en un molino (Thomas-Wiley, Philadelphia, PA, USA) con criba de 1mm y envasadas en frascos de plástico para su posterior análisis.

5.4. Colección de muestras

La toma de muestras se realizó dos veces por día de los días 11 al 14 de cada periodo, colectando muestras individuales de fluido duodenal y heces, con el siguiente horario: día 1, 09:30 y 15:30; día 2, 08:00 y 14:00; día 3, 06:30 y 12:30; y día 4, 05:00 y 11:00 hrs, de tal forma que el intervalo entre muestras fue de 90 minutos por un periodo de 12 h.

Aproximadamente se colectaron 700 ml de quimo duodenal en cada muestreo almacenándose en un recipiente de plástico de 5 L que se mantuvo a -15°C . Al finalizar cada periodo se depositó una alícuota del 10% del total obtenido de quimo en un refractario para secar la muestra a 55°C durante 72 h. Para la colección de heces se tomó aproximadamente 200 gr de las heces más recientes defecadas por el novillo, las muestras de los cuatro días se almacenaron a -15°C , del total se hizo una alícuota y se tomó el 20% como muestra. Al termino de cada periodo, las heces se descongelaron a temperatura ambiente, se homogenizaron manualmente y se extendió una cantidad de aproximadamente 200 g (1 cm de grosor) en papel aluminio para secarse a 55°C . Una vez secas, tanto las muestras de quimo duodenal como las de heces fueron trituradas y molidas en una licuadora convencional hasta obtener un tamaño de partícula de aproximadamente 1mm y se almacenaron en envases de plástico para su posterior análisis.

Cuadro 5. Procedimiento¹ de secado del ensilaje en horno microondas

Ciclo de secado	Ciclos
1	3 min
2	2:30 min
3	1:30 min
4	50 seg
5	40 seg
6	40 seg
7	40 seg
8	30 seg
9	30 seg
10	30 seg
11	25 seg
12	20 seg
13	20 seg
14	15 seg
15	15 seg
16	15 seg
17	15 seg
18	15 seg

¹ En un microondas se colocaron dos recipientes de vidrio, uno con 50 g de ensilaje y otro con 200 ml de agua. El agua se renueva y la muestra se pesa en cada ciclo de secado hasta que dos pesos consecutivos del ensilaje no cambien.

En el último día de cada periodo a las 11:00 hrs, después de la colección rutinaria de la muestra de heces y duodeno, se tomó una muestra de líquido ruminal y se realizó un vaciado del rumen. La colección del líquido ruminal se realizó con una bomba manual de succión, se filtró a través de cuatro capas de gasa quirúrgica e inmediatamente se midió el pH con un potenciómetro de vidrio. A efecto de detener cualquier actividad microbiana y para conservar la muestra hasta su análisis de AGV, se mezcló una alícuota de 80 ml de líquido ruminal con 20 ml de ácido metafosfórico al 25% y se conservó en una bolsa Whirl-Pack a -20°C. Para cuantificar el total de líquidos y sólidos se hizo el vaciado total del rumen con una aspiradora convencional seco-líquido de 50.0 L (Huhtanen y Khalili, 1991). El contenido total se mezcló y se tomó una alícuota (1 kg) que se congeló a -15°C para su análisis posterior. Inmediatamente todo el contenido se regresó a la cavidad ruminal. El procedimiento completo se realizó en un rango 18-25 minutos por animal. La materia orgánica (MO) fermentada en rumen fue considerada igual a la MO consumida menos la diferencia entre la cantidad total de MO y MOM que llegan a duodeno.

5.5. Análisis de laboratorio

Forraje y dieta basal. A todas las muestras de forraje (ensilaje de maíz y heno de alfalfa) y dieta basal se les determinó materia seca total, en una estufa de aire forzado a 105 °C; cenizas, en una mufla a 600 °C; nitrógeno (N) Kjeldahl (AOAC, 2000); fibra detergente neutra, fibra detergente ácida y lignina con el procedimiento de Van Soest *et al.* (1991), almidón y óxido de cromo (Hill y Anderson, 1958).

Líquido ruminal. Para la determinación de AGV las muestras se descongelaron y centrifugaron a 9,000 rpm durante 10 minutos y posteriormente de acuerdo al procedimiento de Hess *et al.* (2003) se hizo la determinación de AGV mediante un cromatógrafo de gases (Hewlett Packard 5890) equipado con un

detector de ionización por flama y columna capilar. Similar al procedimiento descrito por Álvarez y Zinn (2007).

Duodeno. A las muestras de duodeno se les analizó MS, cenizas, FDN, FDA, celulosa, N Kjeldahl, N amoniacal (AOAC, 2000) y concentración de óxido de cromo. Mediante la estimación de purinas como marcador microbioal con el método descrito por Zinn y Owens (1986) se calculó la materia orgánica microbioal (MOM) y el N microbioal (NM) que llega a duodeno.

Heces. Las determinaciones realizadas a las muestras de heces fueron MS (105 °C), cenizas, FDN, FDA, lignina, almidón, celulosa, N Kjeldahl y concentración de óxido de cromo (Hill y Anderson, 1958).

Variables de respuesta. Digestibilidad a nivel ruminal, post-ruminal y tracto total de MO, FDN, FDA, lignina, celulosa, almidón y Nitrógeno; flujo a duodeno de MO, FDN, FDA, lignina, almidón, nitrógeno, N Amoniacal, N microbioal, N no amoniacal, N alimento; eficiencia microbioal y del Nitrógeno. Así como las características de la fermentación ruminal: pH y producción de ácidos grasos volátiles.

5.6 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante un diseño en cuadro latino 4x4 de acuerdo al modelo siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + C_j + H_k + E_{ijk}$$

Donde: T_i = i -ésimo efecto de tratamiento, C_j = j -ésimo efecto de novillo, H_k = k -ésimo efecto de periodo experimental y E_{ijk} = es el error experimental en cada unidad experimental.

Los datos fueron analizados con el método Proc Mixed del programa SAS versión 9.0, 2001. El efecto de los factores en estudio fueron evaluados mediante los

contrastes siguientes: C1, ensilaje de maíz con y sin enzima vs heno de alfalfa con y sin enzima (EMZE, EMZ0 vs HALE, HAL0); C2, adición de la enzima fibrolítica (EMZE, HALE vs EMZ0, HAL0); y C3, ensilaje de maíz vs heno de alfalfa (EMZ0 vs HAL0).

5.7 Prueba de metabolismo y digestión

Para evaluar la influencia de la sustitución de heno de alfalfa (HAL) por ensilaje de maíz (EMZ) y la adición de una enzima fibrolítica sobre la función digestiva y postruminal se realizó una prueba de metabolismo digestivo usando un diseño cuadro latino 4 x 4. Se utilizaron cuatro novillos fistulados en rumen y duodeno, con un peso vivo aproximado de 180 kg. La sustitución de las vacas lactantes por los novillos en el experimento de digestión obedece a ponderar la escasa exactitud que se puede alcanzar al usar animales lactantes fistulados en rumen y duodeno por los mayores problemas de manejo, estabilización de consumo y estrés. Las dietas experimentales fueron: 1) ensilaje de maíz (EMZ) + dieta basal (DB) + 15 g de enzima fibrolítica, EMZE, 2) EMZ + DB sin enzima, EMZ0, 3) Heno de alfalfa (HAL) + DB + 15 g de enzima fibrolítica, HALE, y 4) HAL+ DB sin enzima, HAL0. El consumo diario de materia seca fue restringido en 2.4% del peso vivo en base seca, ofrecido diariamente en dos porciones iguales a las 08:00 y 20:00 horas. Se incluyó en la ración 0.4% de óxido de cromo como marcador de la digesta. Se establecieron cuatro períodos experimentales de 14 días, los primeros 10 fueron de adaptación a la dieta y los cuatro restantes para colección de muestras. Durante el periodo de colección se tomaron muestras individuales de fluido duodenal y heces, dos veces por día con el siguiente horario: día 1, 09:30 y 15:30; día 2, 08:00 y 14:00; día 3, 06:30 y 12:30; y día 4, 05:00 y 11:00 hrs, de tal forma que el intervalo entre muestras fue de 90 minutos por un período de 12 h. En cada muestreo se colectaron aproximadamente 700 ml de quimo duodenal y 200 g de heces (base seca). El último día de colección de cada período, cuatro horas post alimentación, tiempo en que el pH es ± 0.2 similar al promedio de lecturas tomadas de 0 a 9 horas post-alimentación (Cerrato-Sánchez *et al.*, 2006; Zinn *et al.*, 1988;

Santra *et al.*, 2007) se tomó una muestra de líquido ruminal, que fue filtrada en cuatro capas de gasa quirúrgica midiéndosele inmediatamente el pH. Para la estimación de ácidos grasos volátiles (AGV) una alícuota de 80 ml de líquido ruminal se mezcló en una proporción 4:1 con una solución de ácido metafosfórico al 25% (peso/volumen) y se almacenó a -20 C hasta su análisis. Para la determinación de AGV inicialmente las muestras fueron descongeladas y centrifugadas a 9,000 rpm durante 10 minutos, para posteriormente de acuerdo al procedimiento de Hess *et al.* (2003) hacer la determinación de AGV mediante un cromatografo de gases (XL, Perkin Elmer Instruments; Shelton, CT) equipado con un detector de ionización por flama y columna capilar (Elite-FFAP, Perkin Elmer Instruments, 30 m largo x 0.32 diámetro interior x 0.25µm grosor de cobertura). Similar al procedimiento descrito por Huhtanen y Khalili (1991) y Álvarez y Zinn (2007) para cuantificar el contenido total de líquidos y sólidos y FDN en el rumen, al finalizar el último muestreo de cada período se realizó el vaciado ruminal con una aspiradora convencional seco-líquido de 50.0 L, cuatro horas después de ofrecer el alimento por la mañana. El contenido total se mezcló y se tomó una alícuota para estimar la proporción de fibra indigestible e inmediatamente fue regresado a la cavidad ruminal. En promedio el procedimiento completo se realiza en 18 ±5 minutos por cada animal. Basándose en el modelo de Mertens y Ely, (1979) la tasa de pasaje (kp) de la FDN se calculó de la siguiente manera: $K_p = ((FDNI * (1-DRFDN)) / (S * (RFDN/100)))/24$, donde: FDNI = consumo diario total de FDN, DRFDN = digestibilidad ruminal de FDN (%), S = sólidos en rumen (g), RFDN = FDN en rumen, como porcentaje del total de los sólidos ruminales. La tasa ruminal de digestión de FDN se determinó a partir de la relación: $DRFDN = K_d / (K_d + K_p)$. El modelo de Zinn y Salinas, (1999) fue usado para estimar el consumo diario de MS máximo esperado (CMSMX), como una función predecible del peso inicial mermado (PI, kg) o el peso promedio durante el intervalo de interés (Peso, kg), FDN en la dieta (%), eFDN de forraje (FDN efectiva, expresado como porcentaje de FDN en el forraje), y el porcentaje de DRFDN; entonces: $CMSMX, kg/d = (0,001 * (0,098 * PI) + 26,24) * (Peso^{.75}) / (0,01FDN (1 - 0,01DRFDN) / ((0,77 - 0,00386eFDN) * (0,042FDN - 0,037 - 0,00031FDN^2)))$. Las muestras

fueron sujetas a todos o parte de los siguientes análisis: materia seca (105 °C), cenizas, N Kjendahl, N amoniacal (AOAC, 2000), fibra detergente neutro, fibra detergente ácida y lignina (Chai y Uden, 1998), oxido de cromo (Hill y Anderson, 1958), purinas (Zinn y Owens, 1986), almidones y ácidos grasos volátiles mediante cromatografía de gases (Zinn, 1988). Mediante la estimación de purinas como marcador microbial se calculó la materia orgánica microbiana (MOM) y el N microbiano (NM) que llega a duodeno. La materia orgánica (MO) fermentada en rumen fue considerada igual a la MO consumida menos la diferencia entre la cantidad total de MO y MOM que llegan a duodeno. El N del alimento que escapa al intestino delgado es considerado igual al N total que deja el abomaso menos el N amoniacal y NM de tal manera que esto incluye cualquier contribución endógena. La base logarítmica de los valores de pH no enmascara su distribución normal, de tal manera que el modelo utilizado en el presente experimento explica el 95% de su variación. El experimento se analizó como un diseño cuadro latino 4x4. El efecto de los factores en estudio fue evaluado mediante contrastes: C1, ensilaje de maíz con y sin enzima vs heno de alfalfa con y sin enzima (EMZE, EMZ0 vs HALE, HAL0); C2, adición de la enzima fibrolítica (EMZE, HALE vs EMZ0, HAL0); y C3, ensilaje de maíz vs heno de alfalfa (EMZ0 vs HAL0).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ingredientes utilizados y la composición química de las dietas ofrecidas en el presente estudio se presentan en los Cuadros 6 y 7, respectivamente. En los tratamientos a base de ensilaje de maíz, éste fue adicionado fresco diariamente y el resto de los ingredientes se ofreció en una dieta basal. Sin embargo, en los tratamientos que incluyeron el heno de alfalfa, se ofreció como una dieta completa. Como resultado de lo anterior el promedio en los tratamientos a base de ensilaje de maíz (EMZE y EMZ0) fue menor en el contenido de FDA (18.15%), celulosa (14.0%) y lignina (62.18%) y 25.43% más elevado en almidón. Estas diferencias en la composición de los tratamientos observadas en el Cuadro 7 pueden ser atribuidas a la heterogeneidad en el ensilaje de maíz y la composición final de la dieta ofrecida.

Cuadro 6. Composición porcentual de las dietas ofrecidas durante el experimento (Base seca).

Ingredientes	EMZ ^{1, a}	HAL
Grano de trigo	27.684	27.684
Ensilaje de maíz	40.150	0.000
Heno de alfalfa	0.000	42.000
Melaza	6.000	6.000
Sebo	3.000	3.000
Granos Secos de Destilería (DDG)	19.700	19.700
Óxido de cromo	0.300	0.300
Piedra caliza	2.100	1.000
Sal	0.300	0.300
Urea	0.750	0.000
Total	100.00	100.00

EMZ= Ensilaje de maíz, HAL= Heno de Alfalfa.

¹EMZ= Dieta en proporción de 40% ensilaje de maíz y 60% dieta basal.

^aDieta Basal = MS, 95.98%; PC, 22.34%; Almidón, 27.26%; FDN, 19.12%; FDA, 5.38%; Celulosa, 3.54%; Lignina, 1.31% y Cenizas, 8.29%.

Cuadro 7. Composición química de las dietas ofrecidas a los novillos en el experimento (Base seca).

	Tratamientos ¹			
	EMZE	EMZO	HALE	HALO
PC, %	16.25	16.25	17.97	17.07
Almidón, %	25.94	25.94	20.68	20.68
FDN, %	29.30	29.30	31.91	31.91
FDA, %	13.18	13.18	17.08	17.08
Cel, %	10.32	10.32	12.00	12.00
Lig, %	1.49	1.49	3.94	3.94
Cenizas, %	8.22	8.22	7.99	7.99

PC= Proteína Cruda, FDN= Fibra Detergente Neutro, FDA= Fibra Detergente Ácido, Cel=Celulosa, Lig= Lignina.

¹Tratamientos: EMZE= EMZ + 15 g de Enzima Fibrolítica; EMZO= EMZ sin enzima; HALE= HAL + 15g de Enzima Fibrolítica; HALO = HAL sin enzima.

El consumo de nutrientes por los novillos en el presente estudio se observa en el Cuadro 8. Debido a que el consumo de alimento ofrecido a los animales fue restringido las diferencias numéricas solo obedecen a la composición de las dietas y no a una respuesta aleatoria ni dependiente a la aplicación de los tratamientos.

Cuadro 8. Consumo de novillos alimentados a base de ensilaje de maíz y heno de alfalfa.

	Tratamientos ¹				EE ²
	EMZE	EMZO	HALE	HALO	
Consumo, g/d					
MS	4617	4623	4664	4677	276
MO	4254	4259	4309	4321	263
FDN	1310	1311	1430	1434	111
FDA	590	590	765	767	62
Celulosa	462	462	540	541	52
Almidón	1106	1108	990	993	84
N	115	115	128	128	6

MS= Materia Seca, MO= Materia Orgánica, FDN= Fibra Detergente Neutro, FDA= Fibra Detergente Ácido, N= Nitrógeno.

¹Tratamientos: EMZE= EMZ + 15 g de Enzima Fibrolítica; EMZO= EMZ sin enzima; HALE= HAL + 15g de Enzima Fibrolítica; HALO = HAL sin enzima.

²Error estándar.

La influencia de los tratamientos sobre el flujo de las diferentes fracciones hacia el duodeno se observa en el Cuadro 9. Los tratamientos en que se sustituyó el heno de alfalfa por ensilaje de maíz presentaron un menor flujo hacia duodeno ($P < 0.05$) de todos los componentes, a excepción del almidón, N no amoniacal y N del alimento. Al comparar únicamente los tratamientos EMZ0 y HAL0 estos no presentaron diferencias ($P > 0.05$) en el flujo de MO, FDN, celulosa, N y N-microbial del tracto anterior hacia duodeno, pero en el tratamiento EMZ0 ocurrió un mayor ($P < 0.05$) flujo de almidón y N no amoniacal hacia duodeno y menor ($P < 0.05$) salida de lignina y N amoniacal. Otro estudio en que se comparan una gramínea con alfalfa tampoco reportaron diferencias consistentes en la llegada de MO a duodeno (Pinos *et al.*, 2002). En el caso de la adición de la XLN, esta no influyó ($P > 0.05$) sobre el flujo de la MO hacia duodeno. En otra investigación (Yang *et al.*, 1999) donde se adiciono una dosis alta (2g/kg de MS) de enzima fibrolítica tampoco existió diferencia en la llegada de MO a duodeno, siendo estos resultados similares a las observadas en el presente estudio.

El efecto de los tratamientos sobre la digestión en rumen, la síntesis microbial y la eficiencia de uso del Nitrógeno en el presente experimento aparecen en el Cuadro 10. En contraste a los tratamientos a base de heno de alfalfa, HAL0 y HALE, las dietas que incluyeron al ensilaje de maíz presentaron en promedio mayor digestión ruminal de la MO (5%; $P = 0.072$), FDN (10%; $P = 0.106$), FDA (37%; $P = 0.07$), celulosa (27%; $P = 0.045$) y eficiencia de uso del N (34%; $P < 0.05$) pero menor degradación del N en rumen (19%; $P < 0.05$), síntesis de MO microbial (20%; $P = 0.005$) y eficiencia microbial (24%; $P < 0.05$). Estudios como los de Greenfield *et al.* (2001) y Taylor y Allen (2004) al ofrecer dietas a base de híbridos de ensilaje de maíz reportaron resultados similares al presente estudio en la digestión en rumen de la MO, N y almidón. Oba y Allen (2000) consideran que factores como el contenido de MS, estado de madurez al momento del corte y el tamaño de partícula de los ensilajes son los de mayor influencia y enmascaran inclusive diferencias causadas por la especie vegetal.

La adición de la XLN no tuvo influencia ($P > 0.05$) sobre ninguno de los parámetros digestivos en las dietas a base de ensilado de maíz, pero en los tratamientos que incluyeron heno de alfalfa la enzima provocó una mayor (16%; $P < 0.05$) eficiencia microbiana, comparada con la dieta que no la recibió. Yang *et al.* (1999) mostraron que dietas a base de heno de alfalfa con una dosis alta de xilanasa (2g/kg de MS) presentan en rumen una digestión superior de la PC, esto pudo ser facilitado por la mayor síntesis microbiana. En concordancia con lo anterior debido a la suplementación con enzimas fibrolíticas (Fibrozyme) Zinn y Salinas (1999) reportaron un incremento en la síntesis microbiana y el consecuente aumento (23%) en la digestión de FDN en rumen.

Cuadro 9. Flujo de nutrientes a duodeno en novillos alimentados a base de ensilaje de maíz y heno de alfalfa.

	Tratamientos ¹				EE ²	C1 ³		C2 ⁴		C3 ⁵		P < F		
	EMZE	EMZ0	HALE	HAL0		EMZ	HAL	E	NE	EMZ0	HAL0	C1	C2	C3
Flujo g/d														
MO	1758.0 ^c	1878.0 ^{bc}	2201.0 ^b	2005.0 ^{ab}	147.0	1818.0	2103.0	1979.5	1941.5	1878.0	2005.0	0.006	0.649	0.292
FDN	621.0 ^b	637.0 ^b	826.0 ^a	714.0 ^{ab}	67.2	629.0	770.0	723.5	675.5	637.0	714.0	0.007	0.273	0.214
Celulosa	202.0 ^b	223.0 ^{bc}	331.0 ^a	282.0 ^{ac}	29.1	212.5	306.5	266.5	252.5	223.0	282.0	0.003	0.565	0.113
Lignina	73.0 ^b	61.0 ^b	187.0 ^a	168.0 ^a	19.3	67.0	177.5	130.0	114.5	61.0	168.0	< 0.001	0.279	0.001
Almidón	94.7 ^{ab}	100.1 ^a	75.5 ^{ab}	68.0 ^b	10.0	97.4	71.8	85.1	84.1	100.1	68.0	0.024	0.922	0.041
N	91.8 ^b	97.8 ^{bc}	114.3 ^a	105.6 ^{ac}	6.6	94.8	110.0	103.1	101.7	97.8	105.6	0.002	0.708	0.149
N-Amoniactal	31.8 ^b	31.4 ^b	57.6 ^a	54.7 ^a	4.3	31.6	56.2	44.7	43.1	31.4	54.7	< 0.001	0.648	0.001
N-Microbial	43.4 ^b	44.7 ^{bc}	57.8 ^a	52.5 ^{ac}	3.9	44.1	55.2	50.6	48.6	44.7	52.5	0.006	0.483	0.082
N-No Amoniactal	59.9 ^{ab}	66.4 ^a	56.8 ^{ab}	50.9 ^b	6.3	63.2	53.9	58.4	58.7	66.4	50.9	0.057	0.944	0.033
N-Bypass	16.6	21.7	-1.1	-1.6	6.6	19.2	-1.3	7.8	10.0	21.7	-1.6	0.004	0.633	0.011
Agua	32.7 ^b	31.7 ^b	45.7 ^a	43.6 ^a	2.5	32.2	44.6	39.2	37.7	31.7	43.6	0.001	0.365	0.002

^{a, b, c} Medias con distinta literal en una hilera son diferentes ($P \leq 0.05$). MO= Materia Orgánica, FDN= Fibra Detergente Neutro, N= Nitrógeno.

¹Tratamientos: EMZE= EMZ + 15 g de Enzima Fibrolítica; EMZ0= EMZ sin enzima; HALE= HAL + 15g de Enzima Fibrolítica; HAL0 = HAL sin enzima.

²EE= Error estándar.

³C1= Ensilaje de Maíz con y sin enzima vs Heno de Alfalfa con y sin enzima (EMZE, EMZ0 vs HALE, HAL0).

⁴C2= Adición de la Enzima Fibrolítica (EMZE, HALE vs EMZ0, HAL0).

⁵C3= Ensilaje de Maíz vs Heno de Alfalfa (EMZ0 vs HAL0).

Cuadro 10. Digestión ruminal (%) y eficiencia del nitrógeno en novillos alimentados a base de ensilado de maíz y heno de alfalfa.

	Tratamientos ¹				EE ²	C1 ³		C2 ⁴		C3 ⁵		P < F		
	EMZE	EMZO	HALE	HALO		EMZ	HAL	E	NE	EMZO	HALO	C1	C2	C3
Digestión ruminal %														
MO	68.6 ^a	66.6 ^{ab}	62.6 ^b	65.9 ^{ab}	1.66	67.6	64.3	65.6	66.3	66.6	65.9	0.072	0.706	0.761
FDN	51.7 ^a	51.4 ^a	42.6 ^b	50.4 ^{ab}	2.89	51.6	46.5	47.2	50.9	51.4	50.4	0.106	0.224	0.806
FDA	40.9	42.4	25.8	35.1	5.43	41.7	30.5	33.4	38.8	42.4	35.1	0.070	0.331	0.349
Celulosa	55.5 ^a	51.9 ^{ab}	38.2 ^b	46.1 ^{ab}	5.25	53.7	42.2	46.9	49.0	51.9	46.1	0.045	0.655	0.408
Lignina	-8.8	7.1	-4.5	5.2	8.43	-0.9	0.3	-6.7	6.1	7.1	5.2	0.888	0.154	0.875
Almidón	91.2	90.9	92.3	92.9	1.09	91.1	92.6	91.8	91.9	90.9	92.9	0.164	0.875	0.196
N	85.1 ^b	80.8 ^b	101.7 ^a	102.0 ^a	5.54	83.0	101.9	93.4	91.4	80.8	102.0	0.005	0.665	0.014
MO Microbial g/d	433.0 ^b	447.0 ^{bc}	579.0 ^a	526.0 ^{ac}	38.90	440.0	552.5	506.0	486.5	447.0	526.0	0.005	0.485	0.082
Efic. Microbial ⁶	14.7 ^c	15.9 ^c	21.6 ^a	18.7 ^b	1.25	15.3	20.1	18.1	17.3	15.9	18.7	0.001	0.326	0.039
Efic. del Nitrógeno ⁷	0.52 ^{ab}	0.58 ^a	0.43 ^{bc}	0.39 ^c	0.04	0.55	0.41	0.48	0.49	0.58	0.39	0.006	0.867	0.007

^{a, b, c} Medias con distinta literal en una hilera son diferentes ($P \leq 0.05$). MO= Materia Orgánica, FDN= Fibra Detergente Neutro, FDA= Fibra Detergente Ácida, N= Nitrógeno.

¹Tratamientos: EMZE= EMZ + 15 g de Enzima Fibrolítica; EMZO= EMZ sin enzima; HALE= HAL + 15g de Enzima Fibrolítica; HALO = HAL sin enzima.

²EE= Error estándar.

³C1= Ensilaje de Maíz con y sin enzima vs Heno de Alfalfa con y sin enzima (EMZE, EMZO vs HALE, HALO).

⁴C2= Adición de la Enzima Fibrolítica (EMZE, HALE vs EMZO, HALO).

⁵C3= Ensilaje de Maíz vs Heno de Alfalfa (EMZO vs HALO).

⁶Eficiencia Microbial= g de N Microbial/kg de MO fermentada.

⁷N no amoniacal que llega a duodeno/total de N consumido.

El efecto de los tratamientos sobre la digestión postruminal de los nutrientes se presenta en el Cuadro 11. No existió influencia ($P>0.05$) de los factores en estudio sobre la digestión postruminal de la MO, FDA, celulosa, lignina y N. Comparado con los tratamientos de heno de alfalfa, las dietas a base de ensilaje de maíz, EMZE Y EMZ0, presentaron menor (4.3%; $P<0.05$) digestión postruminal del almidón. En estudios previos Oba y Allen (2000) y Taylor y Allen (2004) también reportaron una menor digestibilidad del almidón en el tracto bajo cuando utilizaron dietas a base de ensilaje de maíz.

Independientemente de la fuente de forraje, la adición de XLN incrementó en promedio 58% ($P<0.05$) la digestibilidad postruminal de la FDN; sin embargo, mientras que con el ensilaje de maíz la XLN sólo aumento ($P<0.05$) un 38% la digestión de la FDN en el tracto bajo, con las dietas a base de heno de alfalfa se duplico este incremento (76%; $P<0.05$). Es posible que a dosis altas de xilanasas (2g/kg de MS) se alcance un límite en la digestión en tracto bajo, como lo evidencia el estudio de Yang *et al.* (1999) cuando al adicionar una dosis alta de xilanasas en una dieta a base de alfalfa no reportaron diferencias en la digestión postruminal de la FDN. Existen antecedentes respecto a la resistencia de las enzimas fibrolíticas a la proteólisis ruminal (Fontes *et al.*, 1995), inclusive que una proporción significativa al escapar de la digestión en rumen permanecen activa en el intestino delgado (Hristov *et al.*, 1997). Este hecho plantea la posibilidad de que las enzimas fibrolíticas también pueden alterar la digestión y absorción de nutrientes en el tracto bajo (Hristov *et al.*, 1996). Referente a la digestión postruminal del almidón, esta disminuyó con la presencia de enzima fibrolítica, principalmente en los que recibieron ensilado de maíz, tratamientos con mayor consumo de almidón. Esto se puede atribuir a diversos factores que afectan la degradación del almidón tales como el pH ruminal, la asociación intracelular con proteínas y la composición química de la pared celular que lo recubren (Cheng *et al.*, 1991).

La influencia de los tratamientos sobre la digestión total de nutrientes se observan en el Cuadro 12. En ninguno de los tratamientos se detectaron diferencias ($P>0.05$) en la digestión total de la FDN, FDA, lignina y N. Los tratamientos a base de ensilaje de maíz presentaron una mayor ($P<0.05$) digestión total de la MO y celulosa, 3.6 y 10.4%, respectivamente; pero una menor (0.5%; $P<0.01$) digestión del almidón en el total del tracto. Kowsar *et al.* (2008) reportaron que al sustituir heno de alfalfa por ensilaje de maíz tendieron a disminuir linealmente los coeficientes de digestibilidad total de la MO y FDA, pero la sustitución no afectó la digestibilidad total de la PC y FDN. Oba y Allen (1999) encontraron una mayor digestibilidad de la FDN en las leguminosas debido al menor tiempo de permanencia y el efecto de llenado del rumen en comparación con las gramíneas.

El único efecto atribuible a la adición de la enzima fibrolítica sobre la digestión en el total del tracto, fue una disminución ($P<0.05$) en la digestión total del almidón, independientemente del tipo de forraje. En contraste, Rode *et al.* (1999) al adicionar enzimas fibrolíticas observaron una mayor digestibilidad en el tracto total de los nutrientes, a excepción de la digestión total del almidón. Los tratamientos a base de ensilaje de maíz (EMZ Y EMZ0) registraron una menor (7.8%, $P<0.05$) digestión total de la energía. Sin embargo, Zinn y Salinas (1999) reportan que el uso de enzimas fibrolíticas es más eficiente con suplementos energéticos.

Cuadro 11. Digestión post-ruminal (%) en novillos alimentados a base de ensilaje de maíz y heno de alfalfa.

	Tratamientos ¹				EE ²	C1 ³		C2 ⁴		C3 ⁵		P < F		
	EMZE	EMZ0	HALE	HAL0		EMZ	HAL	E	NE	EMZ0	HAL0	C1	C2	C3
Digestión post-ruminal %														
MO	53.7	52.9	55.5	51.3	1.7	53.3	53.4	54.6	52.1	52.9	51.3	0.961	0.146	0.461
FDN	19.8 ^b	14.4 ^b	30.1 ^a	17.1 ^b	4.0	17.1	23.6	25.0	15.8	14.4	17.1	0.115	0.037	0.624
FDA	18.2 ^{ab}	13.2 ^b	29.4 ^a	18.2 ^{ab}	6.3	15.7	23.8	23.8	15.7	13.2	18.2	0.119	0.120	0.457
Celulosa	16.3	22.6	28.9	19.5	6.8	19.5	24.2	22.6	21.1	22.6	19.5	0.373	0.765	0.677
Lignina	17.8	-3.9	22.1	13.3	11.0	6.9	17.7	20.0	4.7	-3.9	13.3	0.326	0.175	0.271
Almidón	81.8 ^b	86.2 ^a	86.5 ^a	88.9 ^a	1.9	84.0	87.7	84.2	87.6	86.2	88.9	0.036	0.049	0.202
N	73.9 ^b	74.3 ^{ab}	76.1 ^a	74.7 ^{ab}	0.9	74.1	75.4	75.0	74.5	74.3	74.7	0.055	0.437	0.589

^{a, b} Medias con distinta literal en una hilera son diferentes ($P \leq 0.05$). MO= Materia Orgánica, FDN= Fibra Detergente Neutro, FDA= Fibra Detergente Ácida, N= Nitrógeno.

¹Tratamientos: EMZE= EMZ + 15 g de Enzima Fibrolítica; EMZ0= EMZ sin enzima; HALE= HAL + 15g de Enzima Fibrolítica; HAL0 = HAL sin enzima.

²EE= Error estándar.

³C1= Ensilaje de Maíz con y sin enzima vs Heno de Alfalfa con y sin enzima (EMZE, EMZ0 vs HALE, HAL0).

⁴C2= Adición de la Enzima Fibrolítica (EMZE, HALE vs EMZ0, HAL0).

⁵C3= Ensilaje de Maíz vs Heno de Alfalfa (EMZ0 vs HAL0).

Cuadro 12. Digestión total (%) en novillos alimentados a base de ensilado de maíz y heno de alfalfa.

	Tratamientos ¹				EE ²	C1 ³		C2 ⁴		C3 ⁵		P < F		
	EMZE	EMZ0	HALE	HAL0		EMZ	HAL	E	NE	EMZ0	HAL0	C1	C2	C3
Digestión total %														
MO	80.8 ^a	79.5 ^a	77.4 ^b	77.4 ^b	0.63	80.2	77.4	79.1	78.5	79.5	77.4	0.001	0.146	0.010
FDN	61.4	58.4	60.2	59	2.32	59.9	59.6	60.8	58.7	58.4	59.0	0.840	0.248	0.808
FDA	52.3	50.2	47.9	47.7	4.43	51.3	47.8	50.1	49.0	50.2	47.7	0.243	0.666	0.528
Celulosa	62.5 ^{ab}	62.9 ^a	56.2 ^b	57.3 ^{ab}	5.04	62.7	56.8	59.4	60.1	62.9	57.3	0.027	0.689	0.099
Lignina	14.11 ^{ab}	4.54 ^a	20.53 ^b	18.35 ^{ab}	8.51	9.3	19.4	17.3	11.4	4.5	18.4	0.070	0.248	0.078
Almidón	98.51 ^a	98.78 ^{ab}	98.92 ^{bc}	99.22 ^c	0.15	98.6	99.1	98.7	99.0	98.8	99.2	0.009	0.041	0.031
Nitrógeno	79.1	78.1	78.7	79.3	1.0	78.6	79.0	78.9	78.7	78.1	79.3	0.586	0.805	0.263
Energía, Mcal/kg	3.88 ^b	4.18 ^b	4.35 ^a	4.38 ^a	0.351	4.03	4.37	4.12	4.28	4.18	4.38	0.0181	0.1598	0.2233

^{a, b, c} Medias con distinta literal en una hilera son diferentes ($P \leq 0.05$). MO= Materia Orgánica, FDN= Fibra Detergente Neutro, FDA= Fibra Detergente Ácida, N= Nitrógeno.

¹Tratamientos: EMZE= EMZ + 15 g de Enzima Fibrolítica; EMZ0= EMZ sin enzima; HALE= HAL + 15g de Enzima Fibrolítica; HAL0 = HAL sin enzima.

²EE= Error estándar.

³C1= Ensilaje de Maíz con y sin enzima vs Heno de Alfalfa con y sin enzima (EMZE, EMZ0 vs HALE, HAL0).

⁴C2= Adición de la Enzima Fibrolítica (EMZE, HALE vs EMZ0, HAL0).

⁵C3= Ensilaje de Maíz vs Heno de Alfalfa (EMZ0 vs HAL0).

El efecto de los tratamientos sobre las características de la fermentación ruminal en el presente experimento se observan en el Cuadro 13. En los tratamientos a base de ensilaje de maíz se observó la mayor (18.45%, $P < 0.05$) producción de propionato, esto puede coincidir con la mayor cantidad de almidón respecto a las dietas a base de alfalfa. No existió influencia ($P > 0.05$) de los factores en estudio sobre el pH ruminal, acetato, butirato y la relación Acetato:propionato. Yang *et al.* (1999) al ofrecer una dieta a base de heno de alfalfa con una dosis alta de enzimas fibrolíticas (2g/kg de MS) no reportaron diferencias ni en el pH ruminal ni en algún AGV. Por otro lado, al adicionar la enzima fibrolítica no se presentó influencia ($P > 0.05$) sobre la producción total de AGV en novillos. En algunos estudios tampoco se ha reportado influencia sobre la producción total de AGV (Beauchemin *et al.*, 1999; Kung *et al.*, 2000; Hristov *et al.*, 2000) solo ligeras diferencias en relaciones molares, incluso habiéndose aumentado la concentración total de AGV (Lewis *et al.*, 1996). En contraste, Lewis *et al.* (1996) y Dawson y Tricarico (1999) reportaron que las enzimas fibrolíticas aumentan la producción total de AGV en novillos y disminuyen el pH ruminal.

La influencia de los factores en estudio sobre las características del contenido ruminal, la tasa de pasaje y la tasa de digestión de los novillos se muestran en el Cuadro 14. Aunque en ninguno de los tratamientos se observaron diferencias ($P > 0.05$) en el porcentaje de MS, contenido total de sólidos y líquidos en el rumen, fueron las dietas que incluyeron ensilaje de maíz las que presentaron la menor proporción en rumen ($P < 0.05$) de FDA (23.25%; $P < 0.01$), celulosa (21.37%; $P < 0.05$) y lignina (41.35%; $P < 0.01$). En concordancia con lo observado, al comparar únicamente los tratamientos EMZ0 y HAL0, fue el primero quien presentó menores porcentajes de la fracción fibrosa (FDN, FDA, celulosa y lignina) en el contenido ruminal y tasa de pasaje; aumentando a nivel ruminal la eficiencia del Nitrógeno en las dietas a base de ensilaje de maíz. Sin embargo, la adición de la enzima únicamente influyo sobre la tasa de digestión de la FDN ($K_{d_{FDN}}$), al reducirla 12.5% respecto a los tratamientos que no recibieron la enzima.

Cuadro 13. Características de la fermentación ruminal en novillos alimentados con ensilaje de maíz y heno de alfalfa.

	Tratamientos ¹				EE ²	C1 ³		C2 ⁴		C3 ⁵		P < F		
	EMZE	EMZ0	HALE	HAL0		EMZ	HAL	E	NE	EMZ0	HAL0	C1	C2	C3
pH	6.15	6.21	6.26	6.14	0.11	6.2	6.2	6.2	6.2	6.21	6.1	0.836	0.703	0.564
AGV, mol 100 mol ⁻¹														
Acetato	52.31 ^a	48.53 ^a	39.91 ^b	49.19 ^a	4.34	50.42	44.55	46.11	48.86	48.53	49.19	0.1363	0.4611	0.9061
Propionato	16.81 ^a	16.57 ^a	12.69 ^{bc}	15.49 ^b	1.143	16.69	14.09	14.75	16.03	16.57	15.49	0.0454	0.2828	0.5137
Butirato	6.68	5.56	4.99	5.41	1.053	6.12	5.20	5.84	5.49	5.56	5.41	0.2472	0.6340	0.8907
A:P ⁶	3.12	2.96	3.18	3.20	0.267	3.0413	3.19	3.151	3.08	2.96	3.20	0.2401	0.5584	0.1808

^{a, b, c} Medias con distinta literal en una hilera son diferentes (P<0.05).

¹Tratamientos: EMZE= EMZ + 15 g de Enzima Fibrolítica; EMZ0= EMZ sin enzima; HALE= HAL + 15g de Enzima Fibrolítica; HAL0 = HAL sin enzima.

²EE= Error estándar.

³C1= Ensilaje de Maíz con y sin enzima vs Heno de Alfalfa con y sin enzima (EMZE, EMZ0 vs HALE, HAL0).

⁴C2= Adición de la Enzima Fibrolítica (EMZE, HALE vs EMZ0, HAL0).

⁵C3= Ensilaje de Maíz vs Heno de Alfalfa (EMZ0 vs HAL0).

⁶A:P= Relación Acetato:Propionato

Cuadro 14. Contenido ruminal, tasa de pasaje y tasa de digestión en novillos alimentados a base de ensilaje de maíz y heno de alfalfa.

	Tratamientos ¹				EE ²	C1 ³		C2 ⁴		C3 ⁵		P < F		
	EMZE	EMZ0	HALE	HAL0		EMZ	HAL	E	NE	EMZ0	HAL0	C1	C2	C3
Contenido ruminal														
MS, %	13.79	14.10	14.69	14.49	0.93	13.9	14.6	14.2	14.3	14.1	14.5	0.114	0.879	0.455
FDN, %	56.5 ^{ab}	54.8 ^a	55.7 ^{ab}	57.3 ^b	1.12	55.7	56.5	56.1	56.1	54.8	57.3	0.254	0.949	0.040
FDA, %	31.2 ^a	30.2 ^a	39.1 ^b	40.9 ^b	0.77	30.7	40.0	35.2	35.6	30.2	40.9	< 0.001	0.495	< 0.001
Celulosa, %	21.8 ^{ab}	19.4 ^a	25.6 ^{bc}	26.7 ^c	1.38	20.6	26.2	23.7	23.1	19.4	26.7	0.004	0.605	0.005
Lignina, %	7.33 ^a	8.21 ^a	12.91 ^b	13.68 ^b	0.76	7.8	13.3	10.1	10.9	8.2	13.7	< 0.001	0.262	0.001
Contenido Total, kg	24.1	20.5	20.4	22.4	1.69	22.3	21.4	22.3	21.5	20.5	22.4	0.525	0.556	0.426
Sólidos, kg	22.7	18.9	18.9	20.9	1.7	20.8	19.9	20.8	19.9	18.9	20.9	0.578	0.584	0.386
Líquidos, kg	1.70	1.60	1.54	1.46	0.13	1.7	1.5	1.6	1.5	1.6	1.5	0.096	0.289	0.250
Kp ⁶	0.097 ^b	0.110 ^{ab}	0.131 ^a	0.121 ^a	0.013	0.104	0.121	0.114	0.110	0.110	0.110	0.006	0.804	0.184
Kd ⁷	0.105 ^{ab}	0.116 ^a	0.098 ^b	0.124 ^a	0.012	0.111	0.107	0.102	0.116	0.116	0.116	0.885	0.011	0.286

^{a, b, c} Medias con distinta literal en una hilera son diferentes ($P \leq 0.05$). MS= Materia Seca, FDN= Fibra Detergente Neutro, FDA= Fibra Detergente Ácida.

¹Tratamientos: EMZE= EMZ + 15 g de Enzima Fibrolítica; EMZ0= EMZ sin enzima; HALE= HAL + 15g de Enzima Fibrolítica; HAL0 = HAL sin enzima.

²EE= Error estándar.

³C1= Ensilaje de Maíz con y sin enzima vs Heno de Alfalfa con y sin enzima (EMZE, EMZ0 vs HALE, HAL0).

⁴C2= Adición de la Enzima Fibrolítica (EMZE, HALE vs EMZ0, HAL0).

⁵C3= Ensilaje de Maíz vs Heno de Alfalfa (EMZ0 vs HAL0).

⁶Kp= Tasa de pasaje.

⁷Kd= Tasa de digestión.

VII. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones del presente experimento se concluye que es posible sustituir al heno de alfalfa por el ensilaje de maíz en una dieta típica para ganado lechero, ya que inclusive se presentó no solo un incremento en la digestión en rumen de la MO y la fracción fibra, sino también en la digestión total de la MO, la celulosa y la producción de propionato.

Por otro lado la adición de la enzima fibrolítica en el presente experimento no causó ningún efecto sobre la digestión en rumen ni total de ninguno de los principales componentes en las dietas a base de ensilaje de maíz o de heno de alfalfa. Únicamente se observó un marcado incremento en la digestión post-ruminal de la FDN.

VIII. LITERATURA CITADA

- Álvarez, E. G., M. F. Montaña and R. A. Zinn. 2000. Comparative feeding value of elephant grass in growing diets for feetlot cattle. *Proc. West. Sect. Am. Soc. Anim. Sci.* 51:477-480.
- Álvarez, E.G. and Zinn, R.A. 2007. Influence of site of casein infusion on voluntary feed intake and digestive function in steer calves fed a sudangrass-based growing diet. *J. Anim. Vet. Adv.* 6:249 - 256.
- Anrique, R. 1993 Bases para la alimentación de la vaca lechera de la alta producción en pastoreo: Producción Animal 1993. Universidad Austral de Chile, Valdivia Chile.
- AOAC (2000) Official Methods of Analysis (17th ed.). Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, MD, USA. 2200 pp
- Aydin G, Grant R.J, O'rear J.1999. Brown midrib sorghum in diets for lactating dairy cows. *J Dairy Sci*;(82):2127-2135.
- Barber, G. D.; Offer, N. W. y Givens, D. I. 1996. Predicting the nutritive value of silage. In: Garnsworthy, P. C. y Cole, D. J. A. (eds.) Recent developments in ruminant nutrition III. Nottingham University Press. Nottingham, UK. pp: 95-112.
- Bath I. H and J. A. F. Rook. 1965. The evaluation of cattle foods and diets in terms of the ruminal concentration of volatile fatty acids: II. Roughages and succulents. *AgricSci* .64.67-75.

- Beauchemin, K. A., D. Colombatto, D. P. Morgavi, and W. Z. Yang. 2003. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. *J. Anim. Sci.* 81(Suppl. 2E):E37–E47.
- Beauchemin, K. A., D. Colombatto, D. P. Morgavi, W. Z. Yang, and L. M. Rode. 2004. Mode of action of exogenous cell wall degrading enzymes for ruminants. *Can. J. Anim. Sci.* 84:13–22.
- Bernard, J. K., West, J. W., and Trammell, D. S. 2002. Effect of Replacing Corn Silage with Annual Ryegrass Silage on Nutrient Digestibility, Intake, and Milk Yield for Lactating Dairy Cows. *Journal Dairy Science* 85 (9): 2277 – 2282.
- Beever, D. E. 1993. Rumen function in *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism*. 1st ed. J. M. Forbes and J. France, ed. CABI Publishing, Wallingford, UK. Pages 187–215.
- Bhat, M. K., and G. P. Hazlewood. 2001. Enzymology and other characteristics of cellulases and xylanases. Pages 11–60 in *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. M. R. Bedford, and G. G. Partridge, ed. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Bhandari, S. K., Ominski, K. H., Wittenberg, K. M. and Plaizier, J. C. 2007. Effects of Chop Length of Alfalfa and Corn Silage on Milk Production and Rumen Fermentation of Dairy Cows. *Journal Dairy Science* 90 (5): 2355 – 2366.
- Brito, A. F. and Broderick, G. A. 2006. Effect of Varying Dietary Ratios of Alfalfa Silage to Corn Silage on Production and Nitrogen Utilization in Lactating Dairy Cows. *Journal Dairy Science* 89 (10): 3924 –3938.

- Cañete M. V. Y J.L. Sancha. 1998. Ensilado de forrajes y su empleo en la alimentación de rumiantes. P. 1- 260.
- Cherney, D. J. R. 2000. Characterization of forages by chemical analysis. In: Givens, D. I.; Owen, E.; Axford, R. F. E. y Omed, H. M. (eds.) Forage evaluation in ruminant nutrition. Cab International. Wallingford, UK. pp: 281-300.
- Cheng, K. J., Forsberg, C. V., Minato, H. and Costerton, J. W. 1991. Microbial ecology and physiology of feed degradation within the rumen. Proceeding of the Seventh International Symposium on Ruminant Physiology. pp: 595 – 624.
- Church, D.C. 1993. Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes. Ed. Acribia, Zaragoza.
- Colenbrander, V. F., D. L. Hill, M. L. Eastridge, and D. R. Mertens. 1986. Formulating dairy rations with neutral detergent fiber. 1. Effect of silage source. J. Dairy Sci. 69:2718.
- Cox W.J, Cherney D.L. 2001. Influence of brown midrib, leafy, and transgenic hybrids on corn forage production. Agron. J. 93:790-796.
- Dawson, K. A., and J. M. Tricarico. 1999. The use of exogenous fibrolytic enzyme to enhance microbial activities in the rumen and the performance of ruminant animal. Pages 303–312 in Proc. 15th Annu. Symp. Nottingham University Press.
- Dhiman, T. R., and L. D. Satter. 1994. Milk yield and rumen fermentation measurements in cows fed diets containing different proportions of alfalfa and corn silage. J. Dairy Sci. 77(Suppl. 1):222.

- Dhiman T. R. y L. D. Satter. 1997. Yield response of dairy cows fed different proportions of alfalfa silage and corn silage. *J. Dairy Sci.* 80:2069-2082.
- Eun, J.S. and K. A. Beauchemin. 2007. Assessment of the efficacy of varying experimental exogenous fibrolytic enzymes using in vitro fermentation characteristics. *Anim. Feed Sci. Technol.* 132:298–315.
- Farias J.M, Winch J.E.1987. Effect of planting date and harvest stage upon yield, yield distribution and quality of sorghum sudangrass in northern Mexico. *Trop Agric*;(64):87-90.
- Feng, P., C. W. Hunt, G. T. Pritchard, and W. E. Julien. 1996. Effect of enzyme preparations on in situ and in vivo degradation and in vivo digestive characteristics of mature cool-season grass forage in beef steers. *J. Anim. Sci.* 74:1349–1357.
- Fernandez, I., Martin, C., Champion, M. and Michalet-Dorea, B. 2004. Effect of Corn Hybrid and Chop Length of Whole-Plant Corn Silage on Digestion and Intake by Dairy Cows. *Journal Dairy Science* 98 (5): 1298 – 1309.
- Ganoe, K.H., and G.W. Roth.1992. Kernel milk line as a harvest indicator of corn silage in Pennsylvania. *J. Prod. Agric.* 5:519–523.
- Greenfield, T. L., R. L. V. Baldwin, R. A. Erdman, and K. R. McLeod. 2001. Ruminal fermentation and intestinal flow of nutrients by lactating cows consuming brown midrib corn silages. *J. Dairy Sci.* 84:2469–2477.
- Heinrichs, J. y Kononoff, P. 2011. Evaluando el tamaño de partícula de forrajes y RTMs usando el Nuevo Separador de Partículas de Forraje de Penn State. Universidad Estatal de Pensilvania. Departamento de Lechería y Ciencia Animal.

- Higginbotham, G. E., E. J. Petters, S. L. Berry, and A. Ahmadi. 1996. Effect of adding a cell wall degrading enzyme to a total mixed ration for lactating dairy cows. *Prof. Anim. Sci.* 12:81–85.
- Holt, M. S., Williams, C. M., Dschaak, C. M., Eun, J.-S. and Young, A. J. 2010. Effects of corn silage hybrids and dietary nonforage fiber sources on feed intake, digestibility, ruminal fermentation, and productive performance of lactating Holstein dairy cows. *Journal Dairy Science* 93 (11): 5397 – 5407.
- Hunt C W, W Kezar, R Vinande. 1989. Yield, chemical composition and ruminal fermentability of corn whole plant, ear, and stover as affected by maturity. *J. Prod. Agric.* 2:357-361.
- Ivan, S. K., Grant, R. J., Weakley, D. and Beck, J. 2006. Comparison of a Corn Silage Hybrid with High Cell-Wall Content and Digestibility with a Hybrid of Lower Cell-Wall Content on Performance of Holstein Cows. *Journal Dairy Science* 88: 244 –254.
- J.-S. Eun,* K. A. Beauchemin,*1 and H. Schulze†. 2007. Use of Exogenous Fibrolytic Enzymes to Enhance In Vitro Fermentation of Alfalfa Hay and Corn Silage. *J. Dairy Sci.* 90:1440–1451
- Kowsar, R., Ghorbani, G. R., Alikhani, M., Khorvash, M. and Nikkhah, A. 2008. Corn Silage Partially Replacing Short Alfalfa Hay to Optimize Forage Use in Total Mixed Rations for Lactating Cows. *Journal Dairy Science* 91 (12): 4755 – 4764.
- Kung, L., Jr., R. J. Treacher, G. A. Nauman, A. M. Smagala, K. M. Endres, and M. A Cohen. 2000. The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83:115–122.

- Kung, Jr. L., Moulder, B. M., Mulrooney, C. M. , Teller, R. S. and Schmidt, R. J. 2008. The Effect of Silage Cutting Height on the Nutritive Value of a Normal Corn Silage Hybrid Compared with Brown Midrib Corn Silage Fed to Lactating Cows. *Journal Dairy Science* 91 (3): 1451 – 1457.
- Leonardi, C., F. Giannico, and L. E. Armentano. 2005. Effect of water addition on selective consumption (sorting) of dry diets by dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 88:1043–1049.
- Lewis, G. E., C. W. Hunt, W. K. Sanchez, R. Treacher, G. T. Pritchard, and P. Feng. 1996. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. *J. Anim. Sci.* 74:3020–3028.
- Mertens, D. R. 1992. Nonstructural and Structural Carbohydrates. IN: *Large Dairy Herd Management*. Ed. by H. H. Van Horn and C. J. Wilcox. American Dairy Science Association. Champaign, IL USA.
- Mertens, D. R., and Ely, L. O. 1979. A dynamic model of fiber digestion and passage in the ruminant for evaluating forage quality. *Journal of Animal Science.* 49:1085.
- Morgavi, D. P., K. A. Beauchemin, V. L. Nsereko, L. M. Rode, A. D. Iwaasa, W. Z. Yang, T. A. McAllister, and Y. Wang. 2000. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. *J. Dairy Sci.* 83:1310–1321.
- Muller, L. D. 1996. *Nutritional Considerations for Dairy Cattle on Intensive Grazing Systems*.

- Nennich, T. D., Linn, J. G., Johnson, D. G., Endres, M. I., and Jung, H. G. 2003. Comparison of Feeding Corn Silages from Leafy or Conventional Corn Hybrids to Lactating Dairy Cows. *Journal Dairy Science* 86 (9): 2932 – 2939.
- Oba, M., and M. S. Allen. 1999. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:589–596.
- Owens, F. N., and A. L. Goetsch. 1988. Fermentación ruminal, fisiología digestiva y nutrición. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 159–189 pp.
- Ramírez. R. H. 2009. Ensilado de maíz para ganado lechero. Consejos prácticos ilustrados para mejorar la calidad del ensilado. Celaya, México.
- R. Kowsar,* G. R. Ghorbani,* M. Alikhani,* M. Khorvash,* and A. Nikkhah††1, 2008. Corn Silage Partially Replacing Short Alfalfa Hay to Optimize Forage Use in Total Mixed Rations for Lactating Cows. *J. Dairy Sci.* 91:4755–4764 doi:10.3168/jds.2008-1302
- Robinson, Peter, Dan Putnam, and Shannon Mueller. 1998. Interpreting Your Forage Test Report, in *Calif. Alfalfa and Forage Review*, Vol 1, No 2. Univ. of Calif.
- Rode, L. M., Yang, W. Z. and Beauchemin, K. A. 1999. Fibrolytic enzyme supplements for dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 82: 2121_2126.
- Ruiz, T. M., E. Bernal, C. R. Staples, L. E. Sollenberger, and R. N. Gallaher. 1995. Effect of dietary neutral detergent fiber concentration and forage source on performance of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 78:305–319.
- SAS, 2002. Users guide: Statics, version 6.4th edition. SAS Int., Inc., Cary, NC.

- Sheaffer C.C.,J.L.Halgerson, and H.G.Jung.2006. Hybrid and N fertilization affect corn silage yield and quality. *Crop Sci.* 192:278-283.
- Schingoethe, D. J., G. A. Stegeman, and R. J. Treacher. 1999. Response of lactating dairy cows to a cellulose and xylanase enzyme mixture applied to forage at the time of feeding. *J. Dairy Sci.* 82:996–1003.
- Schwab, E. C., Shaver, R. D., Shinnors, K. J., Lauer, J. G. and Coors, J. G. 2002. Processing and Chop Length Effects in Brown-Midrib Corn Silage on Intake, Digestion, and Milk Production by Dairy Cows. *Journal Dairy Science* 85 (3): 613 – 623.
- Smith, W. A., B. Harris Jr, H. H. Van Horn, and C. J. Wilcox. 1993. Effects of forage type on production of dairy cows supplemented with whole cottonseed, tallow, and yeast. *J. Dairy Sci.* 76:205– 215.
- Taylor, C. C. and Allen, M. S. 2005. Corn Grain Endosperm Type and Brown Midrib 3 Corn Silage: Site of Digestion and Ruminant Digestion Kinetics in Lactating Cows. *Journal Dairy Science* 88 (4): 1413 – 1424.
- Tricarico, J. M., K. A. Dawson, and K. E. Newman. 1998. Effects of a microbial enzyme preparation (Fibrozyme) on ruminal digestion of fescue hay. *J. Anim. Sci.* 76(Suppl. 1):289 (Abstr.)
- Van Soest, P.J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Second Ed. Cornell University Press. Ithaca, N.Y
- Van Soest, P.J. 1996. Environmental and forage quality. *Proceedings.Cornell Nutrition Conferences for Feed Manufacturers.58Th Meeting*. Rochester, NY. Ithaca, NY. Cornell University: 1-6.

- Wallace, R. J., S. J. A. Wallace, N. McKain, V. L. Nsereko, and G. F. Hartnell. 2001. Influence of supplementary fibrolytic enzymes on the fermentation of corn and grass silages by mixed ruminal microorganisms in vitro. *J. Anim. Sci.* 79:1905–1916.
- Weiss, W. P. and Wyatt, D. J. 2002. Effects of Feeding Diets Based on Silage from Corn Hybrids that Differed in Concentration and In Vitro Digestibility of Neutral Detergent Fiber to Dairy Cows. *Journal Dairy Science* 85 (12): 3462 – 3469.
- Wolf D.P, Coors J.G, Albrecht K.A, Undersander D.J, Carter P.R. 1993. Forage quality of maize genotypes selected for extreme fiber concentrations. *Crop Sci.* 33: 1353-1359.
- Wu Z., Roth G. 2005. Considerations in managing cutting height of corn silage. Extension publication DAS 03-72. The Pennsylvania State University, University Park. 7 p.
- Yang, W. Z., K. A. Beauchemin, and L. M Rode. 1999. Effects of enzyme feed additives on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:391–403.
- Yang, W. Z. and Beauchemin, K. A. 2005. Effects of Physically Effective Fiber on Digestion and Milk Production by Dairy Cows Fed Diets Based on Corn Silage. *Journal Dairy Science* 88 (3): 1090 – 1098.
- Zinn, R. A. and J. Salinas. 1999. Influence of Fibrozyme on digestive function and growth performance of feedlot steers fed a 78% concentrate growing diet. In: *Biotechnology in the feed industry 15th annual symposium*. United Kingdom. Nottingham university press. pp. 313-319.

Zinn, R.A. and Owens. F.N. 1986. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. Canadian Journal of Animal Science 66: 157-166.

Zinn, R. A. 1991. Comparative feeding value of steam-flaked corn and sorghum in finishing diets supplemented with or without sodium bicarbonate. J. Anim. Sci. 69: 905 - 916.

