

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

**EFFECTO DE COMPUESTOS FENÓLICOS SOBRE LA DIGESTIBILIDAD
DE UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE :
MAESTRO EN CIENCIAS EN
PRODUCCIÓN ANIMAL**

PRESENTA:

MAGDALENA PÉREZ MACEDA



**DIRECCION ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES**



**AGOSTO DE 1997
CHAPINGO, ESTADO DE MÉXICO.**

850841

**EFFECTO DE COMPUESTOS FENÓLICOS SOBRE LA DIGESTIBILIDAD DE
UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ**

Tesis realizada por **Magdalena Pérez Maceda** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

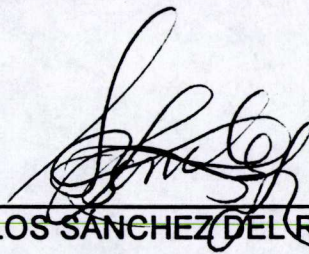
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN ANIMAL

DIRECTOR:



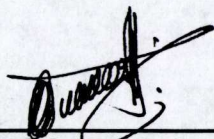
M. Sc. MAXIMINO HUERTA BRAVO

ASESOR:



M. C. CARLOS SANCHEZ DEL REAL

ASESOR:

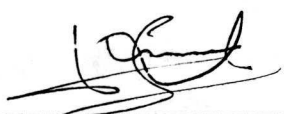


Ph. D. CARLOS FELINO MARCOFF ÁLVAREZ

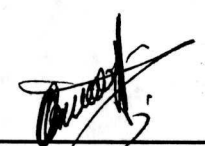
31549

**EFFECTO DE COMPUESTOS FENÓLICOS SOBRE LA DIGESTIBILIDAD DE
UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ**

El jurado que revisó y aprobó el examen de grado de **Magdalena Pérez Maceda** autora de la presente tesis de Maestría en Ciencias en Producción Animal estuvo constituido por:

DIRECTOR: 
M. Sc. MAXIMINO HUERTA BRAVO

ASESOR: 
M. C. CARLOS SÁNCHEZ DEL REAL

ASESOR: 
Ph. D. CARLOS FELINO MARCOFF ÁLVAREZ

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo, especialmente al Departamento de Zootecnia por permitirme escalar un peldaño más en mi formación.

Al M. Sc. Maximino Huerta Bravo, por dirigir éste trabajo y en especial por sus consejos.

Al M.C. Carlos Sánchez del Real y al Ph. D. Carlos F. Marcoff Álvarez, por su tiempo invertido y sus sugerencias encaminadas a mejorar éste trabajo.

A todos mis profesores por compartirme parte de sus conocimientos.

A Leobardo, Cuauhtemoc, Jalisco, Camacho y sus compañeros de equipo que me apoyaron durante la fase de campo.

A los señores Indalecio y José Manuel, por su apoyo en análisis de laboratorio.

A mis amigos, Consuelo, Jesus, Francisco y Jobita por apoyarme en todo momento.

A mis compañeros por compartir con ellos mi estancia en el Programa.

A todas aquellas personas que de alguna forma contribuyeron para poder lograr esta meta.

RESUMEN

EFFECTO DE COMPUESTOS FENOLICOS SOBRE LA DIGESTIBILIDAD DE UNA DIETA A BASE DE RASTROJO DE MAÍZ

Pérez Maceda, Magdalena, Maestro en Ciencias en Producción Animal,
Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo; M. Sc.
Maximino Huerta Bravo.

Para conocer el efecto del ácido hidrocinámico y timol, en la digestibilidad de la materia seca (DMS), fibra detergente neutro (DFDN) y fibra detergente ácido (DFDA) de una dieta a base de rastrojo de maíz, fueron utilizados 20 borregos, de 30 kg de peso, aleatorizados en 5 tratamientos: dos niveles (0.025 y 0.05%) de timol y ácido hidrocinámico, más el testigo (dieta basal). No se encontró efecto de tratamiento sobre DFDN y CMS ($P>0.2$), pero hubo una tendencia sobre DFDA ($P=0.09$) y DMS ($P=0.16$). Los compuestos fenólicos en la dieta no mejoraron la DMS, DFDN, DFDA y CMS. Se efectuó una prueba de digestibilidad *in vitro* donde se utilizaron tres sustratos: alimento de cada uno de los tratamientos de la prueba *in vivo*; alimento del testigo que se le agregó dos niveles (0.025 y 0.05%) de timol y ácido hidrocinámico al ser incubados; y papel que al ser incubado se le adicionó dos niveles (0.025 y 0.05%) de timol y ácido hidrocinámico. Se encontró efecto de tratamiento ($P<0.0001$) sobre el tipo de sustrato utilizado. Los compuestos fenólicos deprimieron ($P<0.05$) la DMS *in vitro*, excepto cuando se utilizó como sustrato el alimento del testigo de la prueba *in vivo*.

Palabras claves: digestibilidad, rastrojo de maíz, timol y ácido hidrocinámico.

SUMMARY

EFFECT OF PHENOLICS COMPOUNDS ON THE DIGESTIBILITY OF A DIET BASED CORN STOVER

Pérez Maceda, Magdalena, Maestro en Ciencias en Producción Animal,
Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo; M. Sc.
Maximino Huerta Bravo.

For know the effect of hydrocinnamic acid and thymol on the digestibility of the dry matter (DDM), neutral detergent fiber (DNDF) and acid detergent fiber (DADF) of a diet based corn stover, were used 20 lambs with 30 kg of weight, randomized in 5 treatments: two levels (0.025 and 0.05%), of hydrocinnamic acid and thymol, plus the witness (basal diet). There was not effect of treatment on DNDF and CDM ($P>0.2$), but there was tendency on DADF ($P=0.09$) and DDM ($P=0.16$). The phenolics compounds in diet did not improvement the DDM, DNDF, DADF and CDM. Was carried a test of digestibility *in vitro* and were used three substrates: food from everyone of the treatment of the test *in vivo*; food of treatment witness that added its two levels (0.025 and 0.05%) of hydrocinnamic acid and thymol, and paper that added its two levels (0.025 and 0.05%) of hydrocinnamic acid and thymol. There was effect of treatment ($P<0.0001$) on the type of substrate used. The phenolics compounds depressed ($P<0.05$) the DDM *in vitro*, except when was used as substrate the food witness of the test *in vivo*.

Key words: digestibility, corn stover, thymol and hydroccinamic acid.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE CUADROS	i
LISTA DE FIGURAS	iii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
3. REVISIÓN DE LITERATURA	3
3.1. Subproductos agrícolas en México	3
3.1.1. Importancia del rastrojo de maíz	5
3.2. Composición química y valor nutritivo del rastrojo de maíz	5
3.3. Factores que afectan el valor nutritivo del rastrojo de maíz	7
3.4. Alternativas para mejorar el valor nutritivo de los subproductos agrícolas	9
3.4.1. Procesamientos físico	9
3.4.2. Tratamiento químico	10
3.4.3. Tratamientos biológicos	11
3.4.4. Suplementación	12
3.5. Componentes estructurales de los subproductos agrícolas	14
3.5.1. Componentes estructurales de la pared celular	15
3.5.1.1. Celulosa	18
3.5.1.2 Hemicelulosa	19
3.5.1.3. Pectina	19

3.5.1.4. Lignina	20
3.5.1.5. Ácidos fenólicos	21
3.6 Compuestos fenólicos	23
3.6.1. Importancia de los compuestos fenólicos	23
3.6.2. Propiedad de los compuestos fenólicos	24
3.6.3. Biosíntesis de los compuestos fenólicos	24
3.6.4. Compuestos fenólicos sintéticos	27
3.6.4.1. Ácido hidrocínámico	27
3.6.4.2. Timol	28
3.7. Degradación de los alimentos fibrosos por los rumiantes	29
3.7.1. Población microbiana ruminal	30
3.7.2. Degradación de las paredes celulares	32
3.7.3. Enzimas microbianas involucradas en la digestión de la fibra	34
3.8. Compuestos fenólicos en la degradación de los alimentos fibrosos	35
3.8.1. Relación entre compuestos fenólicos en los forrajes y digestibilidad	35
3.8.2. Compuestos fenólicos en el rumen	40
3.8.3. Acción de los compuestos fenólicos en la degradación de los carbohidratos estructurales de los forrajes	41
3.8.4. Interacción entre compuestos fenólicos y la actividad de los microorganismos del rumen	46
3.8.5. Metabolismo de los compuestos fenólicos en el rumiante	48
4. HIPÓTESIS	51
5. MATERIALES Y MÉTODOS	52

5.1. Digestibilidad <i>in vivo</i>	52
5.1.1. Localización	52
5.1.2. Duración del experimento	52
5.1.3. Tratamientos	53
5.1.4. Diseños experimental y distribución de animales	53
5.1.5. Manejo	54
5.1.6. Obtención de muestras	55
5.1.7. Análisis de laboratorio	55
5.1.8. Variables de respuesta	56
5.1.9. Análisis estadístico	56
5.2. Digestibilidad de la materia seca <i>in vitro</i>	57
5.2.1. Tratamientos	57
5.2.2. Técnica utilizada	58
5.2.3. Diseño experimental, variables respuesta y modelo estadístico	58
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	60
7. CONCLUSIONES.	71
8. LITERATURA CITADA	72

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Composición química del rastrojo de maíz (% en Base Seca)	6
2. Componentes del forraje y su digestibilidad	15
3. Principales especies de microorganismos que existen en el rumen, sustratos y productos de la fermentación	31
4. Compuestos fenólicos detectados en la pared celular de los forrajes	36
5. Concentración de compuestos fenólicos y digestibilidad de los forrajes al incrementar la madurez	38
6. Compuestos fenólicos encontrados en el rumen	40
7. Digestibilidad de la materia seca de la celulosa (%) al incluir compuestos fenólicos en el medio	43
8. Efecto de ácidos fenólicos libres en el medio de incubación sobre la degradación del sustrato	45
9. Efecto de ácidos fenólicos de los forrajes en la actividad celulolítica en las bacterias del rumen	47
10. Nivel de inclusión de los ingredientes y composición de la dieta utilizada en el medio	54
11. Tratamientos utilizados en la prueba de digestibilidad <i>in vitro</i>	58
12. Valores promedio de DMS, DFDN, DFDA y cambio de peso	61
13. Valores promedio de digestibilidad de la materia seca <i>in vitro</i> para todos los sustratos utilizados	66
14. Digestibilidad <i>in vitro</i> de los diferentes sustratos utilizados en los diferentes tratamientos	67

**15. Valores promedio de DMSIV de los diferentes sustratos
en cada tratamiento**

69

LISTA DE FIGURAS

No. de figura	Página
1. Unidades principales que conforman a la lignina	21
2. Estructura química del fenol	23
3. Síntesis de compuestos fenólicos en vegetales	26
4. Vía biosintética de los ácidos fenilacéticos en plantas	28
5. Estructura química del timol	29
6. Carbonos del ácido p-coumárico que intervienen en el enlace ester	37
7. Hidrogenación de los monómeros fenólicos	50

1. INTRODUCCIÓN

En México se produce gran cantidad esquilmos agrícolas. Para 1986 se indicó una producción de 39,873,904 t de materia seca, de subproductos agrícolas, a partir de los principales cultivos, incluyendo rastrojo, totomoxtle y olote de maíz, pata de sorgo, paja de trigo, paja de frijol, vara de algodón, paja de cártamo, paja de soya, paja de ajonjolí, paja de arroz y paja de cebada (SARH-DGNP citado por Jiménez, 1989). El rastrojo de maíz es el que se produce en mayor volumen, representando el 62% del total de los esquilmos producidos en el país (Villalobos, 1992).

Sin embargo, los subproductos agrícolas presentan una serie de limitantes para ser utilizados en la alimentación animal, como son: el costo de recolección, transporte y almacenamiento, por su gran volumen; la distancia que existe entre las zonas productoras y las que podrían utilizarlos (Valdez y Núñez, 1984); el elevado contenido de fibra (>20%), ya que aproximadamente el 70% de sus componentes químicos se encuentran en la pared celular, cuya digestión es inferior al 40% (Huerta, 1995). Esto último origina la voluminosidad de esquilmos agrícolas que ocasiona un bajo consumo en los animales.

Lo anterior, ha conducido a investigaciones tendientes a mejorar el valor alimenticio de estos recursos y aprovechar la habilidad de los rumiantes para utilizar la celulosa y otros polisacáridos estructurales como fuente de energía. Las alternativas que se han estudiado son: el procesamiento físico (Fernández, *et al.*, 1981), el procesamiento químico con hidróxido de sodio y amoníaco (Huerta, 1995), los tratamientos biológicos, principalmente con hongos y levaduras (Harrison, *et al.*, 1988), y la adición de factores de crecimiento a los microorganismos (Van Nevel y Demeyer, 1988).

Se ha señalado que los ácidos fenilacético y fenilpropiónico son factores de crecimiento de las bacterias celulolíticas. Hungate y Stack (1982) encontraron que el ácido 3-fenilpropiónico es un factor de crecimiento de las bacterias celulolíticas manifestándose en un incremento del 85% en la digestibilidad de la celulosa por *Ruminococcus albus*. La utilización de compuestos fenólicos como el ácido fenilpropiónico y el timol en pruebas de digestibilidad *in vitro* han mostrado resultados similares. En virtud de que todos estos datos se han obtenido *in vitro*, se planteó evaluar el efecto del ácido hidrocinámico y timol, sobre la digestibilidad *in vivo* de la materia seca, fibra detergente neutro y fibra detergente ácido de una dieta a base de rastrojo de maíz, para conocer si los compuestos fenólicos representan una alternativa para mejorar el aprovechamiento de los esquilmos agrícolas.

2. OBJETIVOS

Evaluar el efecto del ácido hidrocínámico y timol, sobre la digestibilidad de la materia seca (MS), fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) de una dieta a base de rastrojo de maíz, en ovinos.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Subproductos agrícolas en México

En México existen gran cantidad de recursos forrajeros que pueden ser destinados al consumo animal, entre ellos: forrajes toscos, residuos agrícolas, esquilmos agrícolas, subproductos agrícolas y subproductos agroindustriales (Jiménez, 1989).

Valdez y Núñez (1984) señalan una producción estimada de 74 millones de toneladas de esquilmos de diferentes especies agrícolas como son maíz, sorgo, frijol, trigo, cebada, etc. Además, 14 millones de toneladas de subproductos agroindustriales que incluyen al bagazo de caña, la pasta de cártamo y el orujo de uva entre otros.

En 1986 se estimó una producción de 39, 873, 904 toneladas de materia seca, considerando esquilmos agrícolas de los diez cultivos más importantes en México. Los que representaron mayor volumen fueron el rastrojo de maíz, pata de sorgo, paja de trigo y olote de maíz con 60.9, 14.0, 8.7 y 7.2% respectivamente (SARH-DGNP, 1987, citado por Jiménez, 1989).

Se estima que del total de energía utilizable por el ganado, producida en el país, los esquilmos agrícolas representan entre el 18 y 20%, sin considerar los alimentos concentrados elaborados fundamentalmente con sorgo y pastas oleaginosas (Castañeda y Monroy, 1984).

Alrededor del 50% de la producción de esquilmos agrícolas se concentra en los estados de Jalisco (12%), Veracruz (10%), Tamaulipas (9%) y Chiapas (9%); un 27% más se origina en los estados de Sinaloa (7%), Michoacán (5%), Guanajuato (6%) y Puebla (4%); los demás producen únicamente el 23 % (Castañeda y Monroy, 1984).

Aproximadamente el 44% de los esquilmos agrícolas se emplea como alimento para el ganado, del cual, cerca de la mitad se ofrece mediante pastoreo directo y suministro en greña. De la pata de sorgo, menos del 40% se emplea como alimento para el ganado: 21% por pastoreo directo, y aproximadamente el 4% se empaca. Con respecto a la paja de trigo, cerca del 28% se cosecha, 2.4%

se pastorea y el 70% es quemado o incorporado al suelo (Castañeda y Monroy, 1984).

3.1.1. Importancia del rastrojo de maiz

El incremento en la producción nacional de maíz en grano ha generado una mayor producción de rastrojo de maíz. De los subproductos agrícolas, el rastrojo de maíz es el que se produce en mayor cantidad. En 1990 se estimó una producción de 27,807,334 toneladas de esquilmos de maíz, aproximadamente un 62% del volumen total de esquilmos (Villalobos, 1992).

El 85% del rastrojo de maíz producido se utiliza para la alimentación de los animales, 32% mediante pastoreo directo, 21% en greña, 10 % empacado y 11% molido. Del olote se aprovecha el 44 %, y sólo se muele el 23% (Castañeda y Monroy, 1984).

3.2. Composición química y valor nutritivo del rastrojo de maíz

Los esquilmos agrícolas se caracterizan por una pobre concentración de nutrientes. La mayoría de los subproductos agrícolas son bajos en energía, proteína y minerales.

Velázquez (1995), al realizar una revisión de 35 subproductos agrícolas, sólo el 5.8% de ellos presentó un contenido de energía suficiente para producciones moderadas en rumiantes (> 2.0 Mcal EM/kg de MS), el 26.47% manifestaron el aporte de energía requerida para mantenimiento (1.8 a 1.98 EM/kg MS), si el animal consume o selecciona cantidades necesarias de alimento. El resto de los subproductos mostraron baja cantidad de energía (< 1.8 Mcal EM/kg de MS).

Con respecto a proteína, Huerta (1995) señala que el 75% de los subproductos que incluyó en una revisión, manifestaron un contenido de proteína inferior al 8%, cantidad insuficiente para satisfacer las necesidades de mantenimiento de los ovinos. En el rastrojo de maíz, los valores de proteína son muy variables, pero la mayoría de los datos que se citan son inferiores al nivel de mantenimiento (Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición química del rastrojo de maíz (% en Base Seca)

MS	EM	ENm	ENg	MO	FC	PC	FDN	FDA	H	L	C	AUTOR
94.70				87.7		5.6	76.3	50.0	26.3	7.9	38.8	CIPIES, (citado por Castañeda y Monroy, 1984)
85.00	2.13	1.28	0.71		34.4	6.6				11.0		NRC (1985)
	2.01	1.14				5.9						Sánchez (1990)
87.60				90.5		6.9	78.4	46.7				Núñez (1993)
85.00	1.81	0.97	0.42		34.4	6.6	67.0	39.0		25.0		Huerta (1995)
85.94				93.1	36.5	3.8	72.3	40.6				Narváez (1997) ¹

MS, materia seca; EM, energía metabolizable; ENm, energía neta para mantenimiento; ENg, energía neta para ganancia; MO, materia orgánica; FC, fibra cruda, PC, proteína cruda; FDN, fibra detergente neutro; FDA, fibra detergente ácido; H, hemicelulosa; L, lignina; C, celulosa.

¹ datos no publicados.

Para el rastrojo de maíz, se indica un contenido de carbohidratos estructurales entre 70 y 80% de la materia seca. Gran parte de ellos se encuentran asociadas con la lignina, representando una fracción no aprovechable por rumiantes.

El alto contenido de complejos lignocelulósicos, así como su bajo contenido de energía y proteína limitan el consumo voluntario, digestibilidad y eficiencia de utilización de los esquilmos por parte de los animales (Castañeda y Monroy, 1984). Se mencionan consumos de 30, 39 y 59 g de materia seca, de rastrojo de maíz, por unidad de peso metabólico (Ortíz, 1975; Peláez, 1979; Alvarado y Carrillo, 1993), y una digestibilidad de la materia seca de 58.4% (Lara, 1978).

A nivel general en el rastrojo de maíz, los minerales frecuentemente deficientes son el fósforo, sodio, cobre, cobalto, manganeso y zinc, pueden ser limitantes calcio y magnesio, los menos problemáticos son potasio y hierro (Romero, 1993).

3.3. Factores que afectan el valor nutritivo del rastrojo de maíz

Los factores que afectan la calidad del rastrojo de maíz son:

a) Densidad de población. La digestibilidad *in vitro* del tallo disminuye al incrementar la densidad de población (Cabrales y Castellanos, 1990).

- b) Momento de cosecha del rastrojo de maíz. La lignificación acompaña la maduración de la planta (Ramalho, 1989). A medida que incrementa la edad de la planta, el contenido de fibra detergente neutro aumenta en hojas tallo y brácteas, y disminuye la digestibilidad de la materia seca (Sánchez y López, 1993). Al realizar una cosecha temprana, las plantas presentan una mayor proporción de lámina foliar (García y Estrada, 1991).
- c) Disponibilidad de agua. Existe menor digestibilidad en la materia seca de las plantas cultivadas en riego con respecto a las cultivadas en temporal (García y Estrada, 1991).
- d) Fertilización.
- e) Precocidad. Existe diferencia en digestibilidad entre las variedades precoces, intermedias y tardías (Flores, 1990).
- f) Relación hoja:tallo. El contenido de carbohidratos estructurales en tallo es mayor que en hoja (Cabrales y Castellanos, 1990). Por otro lado, cuando el porcentaje de tallos en la dieta es elevado (80%), el comportamiento de los animales es negativo, en comparación con el mismo nivel de inclusión de hojas, con el que se logra una respuesta de mantenimiento (Baltazar y Meza, 1990).
- g) Genotipo. Las características de la planta difieren entre genotipos por lo tanto su composición química es diferente.
- h) Localización. Las condiciones climáticas contribuyen en la deposición de lignina, principalmente la temperatura (Akin, 1989).

3.4. Alternativas para mejorar el valor nutritivo de los subproductos agrícolas

3.4.1. Procesamiento físico

La estructura del alimento y el tamaño de la partícula afectan el consumo (Ramalho, 1989), por lo tanto, cuando los forrajes se someten a un procesamiento físico el consumo se mejora. En un análisis que realizó Velázquez (1995), estimó que al ofrecer forraje comprimido en rumiantes se logra un incremento en el consumo (g MS/ kg PV^{0.75}) de 46.1% con respecto a forraje entero, 45.2% en comparación con el forraje picado, y 17.6% al compararlo con forraje molido.

Para procesar los forrajes es necesario cosecharlos, aunque ésto implica mayor eficiencia de cosecha y menor cantidad de desperdicios, simultáneamente se tienen desventajas en el incremento en costos por cosecha, transporte y almacenamiento. Por otra parte, el animal ya no puede complementar su dieta con otras especies y granos remanentes de la cosecha que se encuentran en las rastrojeras, por lo tanto disminuye la posibilidad de que el animal pueda seleccionar, disminuyendo la digestibilidad del alimento por aumentar el consumo, y un aumento en la tasa de pasaje (Huerta, 1995).

3.4.2. Tratamiento químico

Los tratamientos químicos rompen los enlaces ester entre lignina y celulosa o hemicelulosa. Se dice que el tratamiento químico, especialmente con NaOH, solubiliza la hemicelulosa, incrementa la digestión y la tasa de digestión de la celulosa y hemicelulosa (NRC, 1983).

Huerta (1988) al realizar una recopilación de experimentos que incluyeron hidróxido de sodio, señala que el comportamiento en ganancia de peso y conversión alimenticia fue mejor cuando el nivel de forraje en la dieta superó al 60 %. Considerando todos los trabajos, la ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia se mejoraron en un 95, 20 y 39 % respectivamente.

La adición de NaOH ejerce un efecto positivo sobre la digestibilidad de la materia seca, materia orgánica, fibra detergente neutro y fibra detergente ácido. Wanapat *et al.* (1986) señalan un incremento en la digestibilidad de la materia seca de hasta el 30%.

Las limitantes que trae consigo este tratamiento es el costo del tratamiento, disponibilidad de agua para el tratamiento, contaminación ambiental y problemas de seguridad personal (Huerta, 1995).

Al utilizar 3% de amoníaco en el tratamiento del rastrojo de maíz, se incrementa la digestibilidad de materia seca (10.1%), materia orgánica (6.8%), fibra detergente neutro (11.7%) y fibra detergente ácido (16.5 %). En cambio, la digestibilidad de proteína se afecta negativamente (-1.4%). La respuesta en consumo puede ser pequeño o nulo, y en la eficiencia alimenticia es ligera (Huerta 1995).

3.4.3. Tratamientos biológicos

Se mencionan que los hongos de la pudrición blanca tienen la capacidad para degradar la lignina e incrementar la digestibilidad de los subproductos lignocelulósicos. Karunanandaa y Varga (1996) sometieron muestras de paja de arroz a colonización por hongos de la pudrición blanca, y observaron una mayor disponibilidad de la celulosa de las paredes celulares, y por lo tanto una mejora en la digestibilidad de la materia seca *in vitro*. La digestibilidad dependió de la especie del hongo, ya que algunas especies consumieron extensivamente la hemicelulosa.

Recientemente han proliferado los estudios sobre la utilización de probióticos, como son las levaduras. Sin embargo, son pocos los trabajos donde al incluir *Saccharomices cereviceae*, se observa una ligera influencia sobre algunos parámetros de la fermentación ruminal y digestibilidad *in situ* de esquilmos

agrícolas, pero no mejora la digestibilidad *in vivo* de la materia seca, el flujo duodenal y consumo, ganancia de peso y conversión (Corona, 1996).

Por otro lado, han proliferado los estudios que involucran la clonación de genes que determinan la presencia de enzimas que degradan la fibra en los microorganismos (Teather y Ohmiya, 1991).

3.4.4. Suplementación

La suplementación con carbohidratos fácilmente digestibles incrementa el consumo, y puede estimular la actividad microbiana, pero cantidades relativamente altas pueden deprimir la digestión, posiblemente por la disminución del pH ruminal, y predominio de microorganismos que utilizan preferentemente carbohidratos fácilmente digestibles, o por inhibición de la actividad de las celulasas a causa de la existencia de otros metabolitos (Mertens, 1979). Navarrete *et al.* (1993) encontraron que niveles mayores de 6% de melaza en dietas a base de rastrojo de maíz deprimieron la digestibilidad *in vivo*, pero no el consumo en ovinos. Peláez (1979) al evaluar un suplemento (87.04% de sorgo, 10.36% de urea y 2.6% de sulfato de amonio), encontró que con el 14% del suplemento en la dieta, mejoró el consumo en 28%, pero al incluir un nivel del 28%, el consumo no sufrió ningún incremento con respecto al nivel anterior.

Cuando los alimentos contienen menos de 7-8% de proteína, ésta es limitante para los microorganismos y se refleja en un bajo comportamiento animal (NRC, 1976). Dado que la mayoría de los subproductos agrícolas, incluyendo el rastrojo de maíz son deficientes en proteína, al ser suplementados se obtiene buen comportamiento animal. Sin embargo las mejores respuestas se han obtenido cuando el suplemento aporta N no proteínico y proteína verdadera; lo cual indica que de esa forma se cubre el requerimiento de proteína tanto para los microorganismos como para el animal. Bonilla *et al.* (1991), al incluir un suplemento que contenía sorgo, harinolina y urea, en una dieta a base de rastrojo de maíz, observaron una ganancia de peso de 80 g/día en comparación a 9 g/día con un suplemento que sólo contenía sorgo y urea.

La suplementación mineral mejora el comportamiento animal. Uribe (1988), al suplementar con minerales encontró una mejora en la ganancia de peso (80.8%) y conversión alimenticia (80.8%). Por otro lado, Alvarado y Carrillo (1993) realizaron un experimento en cabritos, donde compararon una dieta que sólo consistió de rastrojo de maíz, en la que incluyeron un suplemento mineral y un suplemento energético-proteínico, a 0, 25 y 50% de la dieta. Los animales que recibieron sólo rastrojo de maíz sufrieron una pérdida de peso de 39 g/día, mientras que los suplementados con minerales presentaron una ganancia de 13 g/día. Los animales con la dieta que contenía 50% rastrojo de maíz y 50% concentrado, sin suplemento mineral, manifestaron una ganancia diaria de

11 g, en cambio con suplemento mineral tuvieron una ganancia de 72 g. Con ésto podemos observar que la suplementación mineral es prioritaria.

3.5. Componentes estructurales de los subproductos agrícolas

Los subproductos agrícolas, se componen de cuatro principales tipos de estructuras moleculares que son: lípidos, polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos.

La materia orgánica de los alimentos fibrosos se clasifica en dos fracciones: a) contenido celular (soluble en detergente neutro), y b) constituyentes de la pared celular (insolubles en detergente neutro). El contenido celular incluye: lípidos, carbohidratos solubles, almidón, ácidos orgánicos, sustancias pécticas, N no proteíco y proteína soluble, y la mayor parte de ellos se encuentran sin lignina, por lo que son casi completamente digestibles (Cuadro 2). La otra fracción que es la pared celular, se compone de: celulosa y hemicelulosa, ambas de digestibilidad muy variable, lignina, cutina, sílice y taninos (Ellis *et al.*, 1988) que son indigestibles (Cuadro 2); todos conforman la parte fibrosa de la dieta (Akin, 1986).

Cuadro 2. Componentes del forraje y su digestibilidad

Fraccion de la planta	Componentes	Digestibilidad (%)
Contenido celular (soluble en detergente neutro)	Lípidos	
	Carbohidratos solubles	100
	Almidón	90+
	Acidos orgánicos	100
	Sustancias pécticas	95+
	N no proteico	90+
Constituyente de la pared (insoluble en detergente neutro)	Proteína soluble	
Soluble en detergente ácido	Hemicelulosa	0-80+
	Proteína ligada a la fibra	0-100
Fibra detergente ácido	Celulosa	Variable
	Lignina	0
	Silicio	0
	Cutina	0
	Taninos y polifenoles	0

Adaptado de, Ellis *et al.*, 1988 y Van Soest, 1967y 1983.

3.5.1. Componentes estructurales de la pared celular

Los carbohidratos son los principales almacenadores de la energía fotosintética en las plantas y, comprenden entre el 50 y 80% de la materia seca de los forrajes y granos (Van Soest, 1983). Las plantas sintetizan carbohidratos estructurales y otros compuestos para proporcionar forma y estructura a la célula. Estas se organizan en tejidos especializados, con funciones específicas, como son el tejido vascular, dividido en xilema y floema, parénquima que cubre al tejido vascular, esclerénquima, una capa de cubierta epidermal y células del mesófilo (Ellis *et al.*, 1988). Por lo tanto, son componentes de la mayor parte de la pared celular de las plantas (Chesson y Forsberg, 1988).

Los vegetales presentan dos tipos de pared celular: pared celular primaria y pared celular secundaria. Durante el crecimiento y desarrollo de la pared celular primaria, la célula vegetal incrementa su tamaño mediante la elongación de la pared. En esta fase la pared celular es una estructura compuesta de polisacáridos, proteínas y ácidos fenólicos, además, se depositan pectinas, xilanos y celulosa, pero no hay depositación de lignina; en gramíneas el ácido ferúlico y una pequeña cantidad de ácido p-cumárico son esterificados, para conformar polímeros arabinoxilanos que se acumulan abajo de la pared celular primaria (Jung *et al.*, 1992). Cuando la elongación de la célula cesa, la pared celular secundaria empieza a convertirse más densa, creciendo por el lado del borde interno adyacente a la pared celular primaria, hacia el centro de la célula vegetal. El material polisacárido que se deposita durante el crecimiento de la pared secundaria, es más rico en celulosa que en xilanos, y las pectinas que se adicionan a la pared celular son escasas; el ácido ferúlico tampoco se incrementa en la pared celular secundaria. La acumulación de los polímeros de la lignina comienza con el crecimiento de la pared secundaria, primero se efectúa en el espacio intercelular (lamela), posteriormente en la pared celular primaria y finalmente en la pared celular secundaria (Jung y Allen, 1995).

Todas las capas de la pared consisten de una fase microfibrillas de celulosa y una fase matriz. La fase microfibrillas presenta un alto grado de cristalinidad y relativamente una homogénea composición química. La matriz presenta un

acomodo extremadamente complejo, ya que contiene gran número de polímeros que están superpuestos unos sobre otros e interactúan entre sí. Están unidos por enlaces covalentes y enlaces no covalentes. En la pared celular primaria se encuentra una malla de microfibrillas de celulosa orientadas al azar que puede estar embebida en una matriz amorfa de los otros componentes de la pared celular, formada de polisacáridos no-celulósicos tales como los xiloglucanos, glucogalactanas, galactomanosas y glicoproteínas (Chesson y Forsberg, 1988), lignina y monómeros fenólicos (Akin, 1989).

Por lo anterior, la pared celular se define como un complejo de celulosa, hemicelulosa, lignina, pectina, algunas proteínas, ceras, cutina y componentes minerales, que se encuentran en una estrecha relación química y física (Ellis *et al.*, 1988; Brett y Waldron, 1990). La pared celular de las pajas ocupa el 74% de la materia seca; de ésta, en las gramíneas el contenido de hemicelulosa oscila de 40 a 60% , la celulosa de 34 a 51%, y la lignina de 4.9 a 11.1%. (Van Soest, 1983).

El valor nutritivo de un forraje depende de varios elementos, pero casi todos se basan en las modificaciones de la proporción de pared celular en la planta y su grado de lignificación. Su digestibilidad limita el consumo potencial y la digestibilidad de energía de los forrajes para el animal (Jung y Allen, 1995).

3.5.1.1 Celulosa

La celulosa es el carbohidrato más abundante en el mundo, que abarca entre 20 y 40% de la materia seca de todas las plantas superiores (Van Soest, 1983), representa el principal constituyente de la estructura de los vegetales. Es un polímero lineal de glucosa $\beta(1-4)$, enlazadas por puentes de hidrógeno, puede contener hasta 14,000 moléculas de glucosa, conformando fibrillas microscópicamente visibles, en las cuales los anillos de glucosa presentan una posición *trans*, cada dos unidades; en el carbono 6 presenta un hidroxil, que interviene en los enlaces cruzados de puentes de hidrógeno que dan lugar a la cristalinidad (Van Soest, 1983; Murray *et al.* 1988). En los espacios existentes entre las microfibrillas se concentran la hemicelulosa, lignina y otros constituyentes como minerales, y se conforma una matriz que posibilita diferentes enlaces entre celulosa, lignina y hemicelulosa (Chesson y Forsberg, 1988; Van Soest, 1983).

La digestibilidad de la celulosa es muy variable (0-100%), y depende de: 1) la cristalinidad de la molécula, 2) polimerización, a mayor grado de polimerización hay un mejor ordenamiento de la molécula de celulosa, mayor cristalinidad y menor grado de hidratación, 3) concentración y distribución de los grupos metil, acetil, hidroxietil, etc, en la molécula, 4) enlaces éster conformados, 5) concentración de lignina, cutina, y 6) naturaleza de las sustancias asociadas a la lignina como carbohidratos, minerales, lípidos, nitrógeno y fenoles, entre

otras (Van Soest, 1983). Por lo tanto, la resistencia de celulosa a la degradación está directamente relacionado al grado de orden dentro de la molécula, y a su asociación con otros componentes.

3.5.1.2. Hemicelulosa

Se compone de polímeros de composición variada (más cortos que la celulosa), cadenas de glucano, polímeros de xilosa, galactosa, manosa y arabinosa, así como de ácidos urónicos, donde el factor común es el enlace β , 1-4. El xilano, en forma de glucarabinoxilano, es el principal componente (Dearriba, 1988; Chesson y Forsberg, 1988; Van Soest, 1983).

Se menciona que la digestibilidad de la hemicelulosa varía de 6 a 40%, y que su concentración influye sobre la digestibilidad, de forma diferente para cada especie de gramínea, ya que ofrece resistencia a la digestión (Dearriba, 1988).

3.5.1.3. Pectina

Es un polímero de polisacáridos, basados en cadenas de ácido galacturónico que se enlazan mediante β (1-4); los grupos de ácidos carboxílicos están variablemente esterificadas con metanol y residuos de ácido urónico. La cadena de ácido poligalacturónico presenta una disposición en espiral,

determinado por la interpolación de la ramnosa en la cadena (Van Soest, 1983).

3.5.1.4. Lignina

La lignina es un polímero tridimensional, de alto peso molecular formado a partir de estructuras de fenilpropano derivadas, principalmente, de unidades de alcoholes aromáticos (Fig. 1), coniferil, *p*-hidroxinamil (*p*-coumaril), y ciringil (sinapil), que son los precursores de las unidades monoméricas de la lignina *p*-hidroxifenol, guayacil y siringil, respectivamente (Higuchi, 1990). Estos monómeros están unidos entre sí por fuertes enlaces covalentes entre carbono y carbono y entre carbono-oxígeno-carbono (Monties, 1989). Existen diferentes tipos de enlaces intermonoméricos y debido a eso no es posible la hidrólisis con relativa facilidad como en los carbohidratos estructurales.

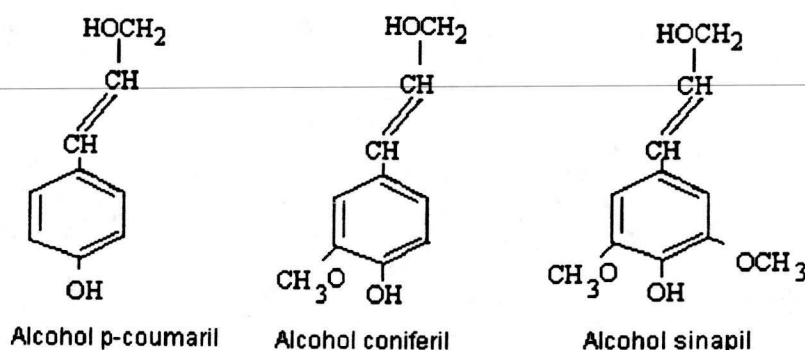


Figura 1. Unidades principales que conforman a la lignina.

La complejidad general de la estructura química de la lignina, en términos de enlaces intermonoméricos, puede explicarse por una reacción al azar de

radicales fenoxi, producidos por oxidación peroxidasa de los 3 monómeros fenilpropanos.

Los radicales existentes en la lignina son: Catecol (*3,4-Dihidroxifenil*), Metoxicatecol (*3-Metoxi-4,5-dihidroxifenil*), Anisil (*4-Metoxibencil*), Veratryl (*3, 4-Dimetoxibencil*), Cinamil (*3-Benzil-allil*), Coniferil (*3-Metoxi-4-hidroxifenil*)-allil, Guayacil (*3, Metoxi-4- hidroxifenil*), Siringil (*3,5-Dimetoxi-4-hidroxifenil*) e Hidroxifenil (*4-Hidroxifenil*). Los tres últimos son más comunes (Monties, 1989).

La variación bioquímica de la lignina se debe principalmente a diferencia entre plantas, etapas de desarrollo y origen citológico, ya que pueden cambiar la composición monomérica, alterar la naturaleza y la proporción de enlaces intermonoméricos y así modificar el esquema prototipo de lignina (Monties, 1989). Así por ejemplo, la distribución de la lignina en la pared celular secundaria en la fibra, es más rica en unidades siringil, mientras que la pared celular primaria de las nervaduras consiste de mayor cantidad de residuos guayacil.

La lignina puede encontrarse ligada a azúcares hemicelulósicos tales, como xilosa, arabinosa, manosa y glucosa, celulosa, sustancias pécticas o ácidos fenólicos por enlaces eter o éster. En la pared celular pueden existir asociaciones entre lignina y otros polimeros como glicoproteínas y taninos.

Las paredes de ciertos tipos de células son especiales por su solidez estructural dada por el recubrimiento de la lignina. Durante el crecimiento de la planta el papel de la lignina es ofrecer impermeabilidad a las nervaduras (Monties, 1989; Brett y Waldron, 1990): También se menciona que funge como protección al ataque de microorganismos a las plantas.

La fracción indigestible de la fibra está estrechamente relacionada al contenido de lignina de los forrajes (Durand, 1989). A medida que su concentración incrementa en los forrajes la digestibilidad de la fibra disminuye. Sin embargo, se observa que la relación entre lignina y digestibilidad de la pared celular sólo se manifiesta en ciertos forrajes (Jung y Vogel, 1986).

3.5.1.5. Ácidos fenólicos

Los compuestos fenólicos son de bajo peso molecular, y se han aislado de las paredes celulares por medio de un tratamiento con alkalis, celulasas o NH_3 incluyendo: ácido *p*-coumárico, ácido ferúlico, ácido diferúlico, y ácido vanílico (Hartley y Jones, 1977), ácido *p*-benzoico, ácido protocatecuico, ácidos salicílico y siríngico.

3.6. Compuestos fenólicos

El término fenólico es utilizado para definir sustancias que poseen uno o más hidroxilos (OH) ligados a un anillo aromático. El nombre deriva de la sustancia patrón fenol simple (Fig. 2).

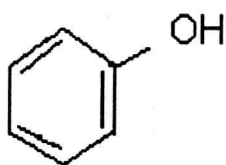


Figura 2. Estructura química del fenol

Los compuestos que tienen varios o muchos hidroxilos, frecuentemente son referidos como polifenoles (Waterman y Mole, 1994).

Los ácidos fenólicos (salicílico, p-hidroxi benzoico, protocatecuico, vanílico, gálico, siringico y gentísico) y sus correspondientes ésteres y glicósidos, aparecen muy comúnmente en forma libre o ligada en angiospermas. Diferentes ácidos hidroxifenilacéticos se han encontrado en plantas.

3.6.1. Importancia de los compuestos fenólicos

Se atribuyen varias funciones a los compuestos fenólicos en las plantas. Los ácidos fenílico y coumárico, intervienen en la regulación de la germinación de la semilla. Otros compuestos fenólicos inhiben la germinación de las semillas de fungispermas y de plantas en general. Se menciona que los fenoles pueden tener importancia en los mecanismos de resistencia en las plantas contra

fitopatógenos. Por otra parte, se considera como criterio la presencia de ciertos ácidos fenólicos en las plantas para ubicarlas taxonómicamente.

Gran variedad de compuestos fenólicos tienen uso médico, algunos de ellos son los siguientes: el fenol, catecol y timol son utilizados como antisépticos; el guaiacol es un espectorante; el resarcinol se utiliza en el tratamiento del acné y psoriasis, y el arbutin es un diurético (Sumere, 1989). Se señala que el ácido gálico es inhibidor de la formación de anticuerpos.

3.6.2. Propiedades de los compuestos fenólicos

A menos que ellos estén completamente esterificados o glicosilados, normalmente son solubles en solventes orgánicos polares. Con pocas excepciones, la solubilidad en agua se incrementa con el número de hidroxilos presentes. Como sustancias aromáticas, muestran absorbancia en la región interna ultravioleta del espectro (Waterman y Mole, 1994).

3.6.3. Biosíntesis de los compuestos fenólicos

Los principales compuestos fenólicos de los vegetales se agrupan en ácidos cinámicos (compuestos C_6-C_3), benzoicos (C_6-C_1) y fenilacéticos (C_6-C_2). En plantas superiores, la biosíntesis de compuestos C_6-C_1 y C_6-C_2 principalmente es con base a la producción de compuestos precursores C_6-C_3 , seguido por la

degradación apropiada de cadenas laterales de C₃ (Barz y Weltrig, 1985; Gross, 1981). Por ello, se menciona que el ácido cinámico junto con ácido benzoico, están en el centro del metabolismo de los fenoles en las plantas y mediante diferentes reacciones dan origen a gran variedad de compuestos (interconversiones, conjugaciones, polimerización oxidativa y degradación).

A través de estudios enzimáticos se ha encontrado que los ácidos cinámicos pueden originarse a partir de L-fenilalanina o L-tirosina (Fig. 3), dependiendo de la especie vegetal. Al actuar la enzima amonio-liasa en ellas, se originan ácido cinámico y ácido *p*-coumárico, los cuales mediante la acción de hidrolasas se sintetizan otros compuestos (Gross, 1981; Ibrahim, 1993).

El mecanismo más importante para la formación de ácidos benzóicos es la degradación de la cadena lateral de ácidos cinámicos. Con la remoción de un acetato, se producen los diferentes ácidos benzóicos (Gross, 1981).

Los ácidos fenilacéticos son menos frecuentes que los ácidos C₆-C₃ y C₆-C₁. Su biosíntesis parece involucrar procesos de catabolismo, como la descarboxilación oxidativa de cetoácidos formados de fenilalanina y tirosina (Fig 4). Así el ácido *p*-hidroxifenilacético se forma a partir del ácido *p*-hidroxifenilpirúvico, y *o*-hidroxifenilacético del ácido fenilpirúvico (Gross, 1981).

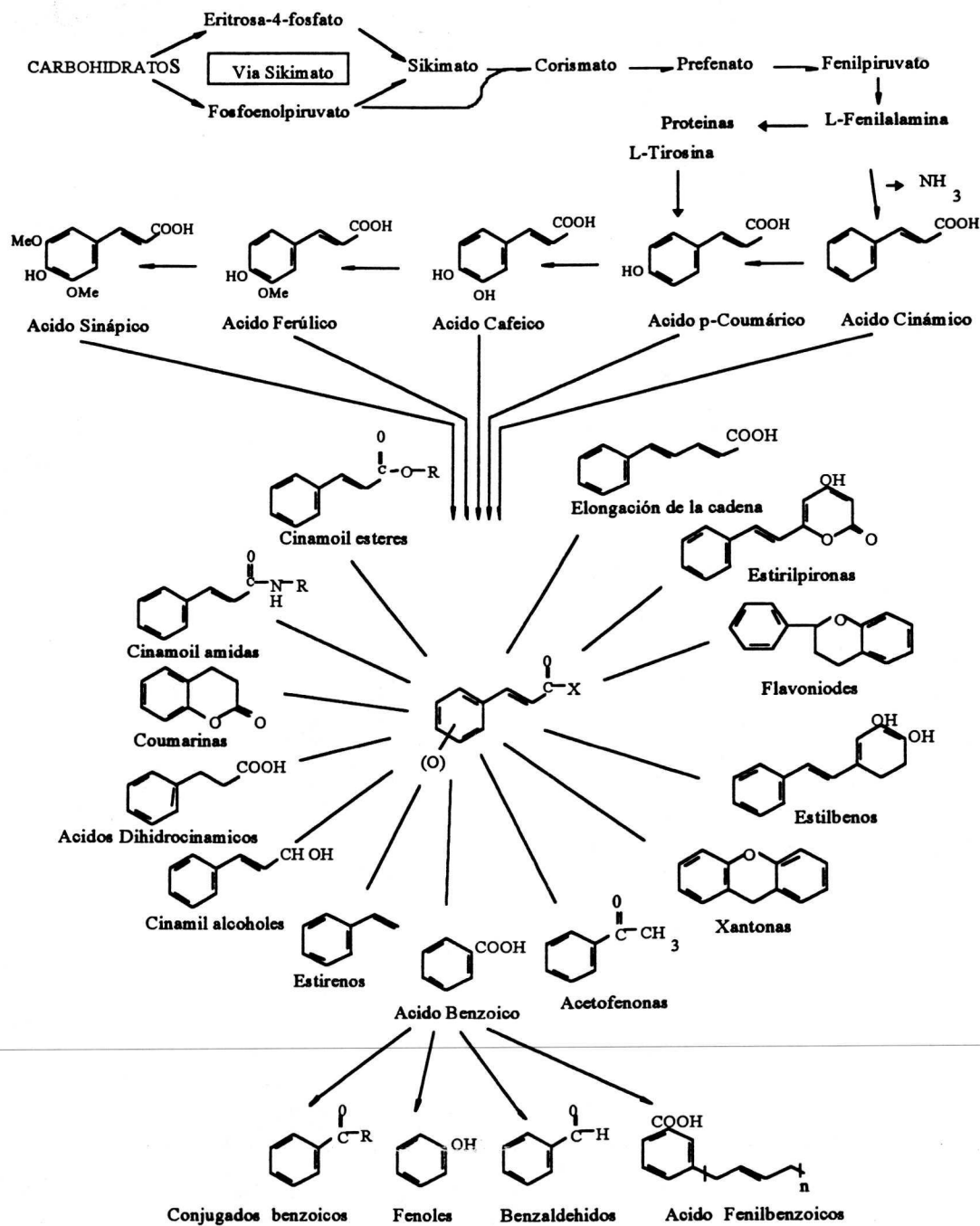


Figura 3. Síntesis de compuestos fenólicos en vegetales (Sumere, 1989).

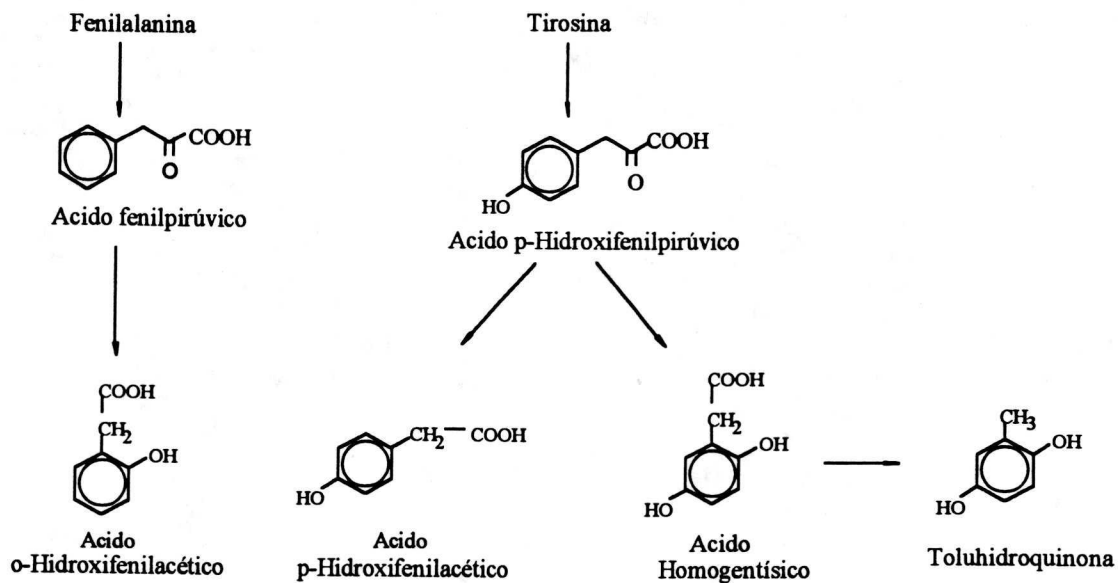


Figura 4. Vía biosintética de los ácidos fenilacéticos en plantas.

3.6.4. Compuestos fenólicos sintéticos

3.6.4.1. Acido hidrocinámico

Otros nombres que se le atribuyen son: ácido benzenopropanoico, ácido 3-fenilpropiónico; ácido β fenilpropiónico y ácido bencilacético. Su fórmula química es: $C_6H_5CH_2CH_2COOH$. Se obtiene por la reducción de ácido cinámico o propiofenona. Su peso molecular es 150.18 y su presentación es en cristales

blancos. Es más soluble en agua caliente, alcohol, benceno, cloroformo, eter y ácido acético glacial.

3.6.4.2. Timol

También se conoce por 5-metil - 2- (1- metiletil) fenol; 5-metil-2-isopropil-1-fenol; 1-metil-3-hidroxi-4-isopropil benceno; 3-*p*-cimenol; 3-hidroxi-*p*-cimene; time camfor; m-timol. La fórmula química del timol es: $C_{10}H_{14}O$ (Fig. 5). Su peso molecular es de 150.21. Fue aislado por Neumann en 1719. Es obtenido del aceite esencial de *Thymus vulgaris* L. y *Monarda punctata* L; también se encuentra presente en aceites volátiles. Es producido sintéticamente de *p*-cimene, piperitona, o m-cresol. Es presumiblemente volátil a 100°C. Es soluble en ácido acético glacial, aceítes, hidróxi álcalis fijados.

Se usa comúnmente para destruir hongos y parásitos en herbários, preservar especímenes anatómicos y orina. Se ha recomendado para la prevención del crecimiento de hongos en plantas y como antifúngico para el papel. En la industria farmaceútica se utiliza para la elaboración triclوروetileno. Su uso veterinario es como un antihelmíntico y antiséptico externo e interno en gatos.

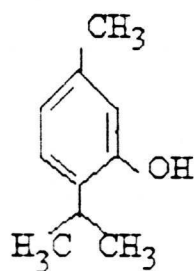


Figura 5. Estructura química del timol

3.7. Degradación de los alimentos fibrosos por los rumiantes

La capacidad que tienen los rumiantes para aprovechar los forrajes se basa en la gran población microbiana ruminal, y la relación de simbiosis que se mantiene entre éstos y el animal. Se le considera al rumen como el ecosistema natural microbiano, ya que los nutrientes de los sustratos tienen un profundo efecto en el desarrollo de comunidades de microorganismos (Cheng *et al.*, 1991).

Cada tipo bacteriano existente en el rumen desarrolla funciones diferentes, de tal manera que los componentes del alimento que el animal no puede degradar los convierten a productos utilizables por él, como son: ácidos grasos volátiles, amoníaco, bióxido de carbono, etanol, ácido láctico, ácido fórmico, ácido succínico, hidrógeno, agua, etc. (Dearriba, 1988).

3.7.1. Poblacion microbiana ruminal

Las principales clases de microorganismos en el rumen son las bacterias, protozoarios, en menor cantidad hongos, y también se han llegado a encontrar levaduras (Cuadro 3). Son diferentes los sustratos sobre los que cada microorganismo actúa, así como los productos finales que originan. Sin embargo, se señala que de todos los microorganismos existentes en el rumen, las bacterias colonizan más rápidamente las partículas de tejidos de la planta que entran al rumen llevando a cabo la mayor parte de la digestión de la fibra (Akin, 1986).

Se han encontrado un mayor número de hongos en el rumen de animales alimentados con dietas fibrosas. Por lo tanto, estimular la implantación de hongos, también puede mejorar la digestibilidad de las dietas a base de esquilmos (Orpin y Letcher, 1983).

Bacterioides succinógenes (bacilos gram negativos), *Ruminococcus flavefaciens* y *R. albus* (cocos, gram positivos), son las especies celulolíticas más importantes (Durand, 1989). En hongos, los géneros *Neocallimastix*, *Piromonas* y *Sphaerimonas* son los que se han visto involucrados en la degradación de la fibra (Fonty y Joblin, 1991). Con respecto a protozoarios, se

Cuadro 3. Principales especies de microorganismos que existen en el rumen, sustratos y productos de la fermentación

GENERO	ESPECIE	SUBSTRATOS	PRODUCTOS	REQUERIMIENTOS
BACTERIAS				
<i>Bacteroides</i>				
	<i>amiloophilus</i>	almidon	F, A, S	C0 ₂ , NH ₃ ., BrVFA
	<i>succinogenes</i>	celulosa, celobiosa,	F,A,S	C0 ₂ , NH ₃ ., BrVFA, SVFA, Vit.
	<i>ruminicola</i>	pectinas, hemicelulosa	S	C0 ₂
<i>Ruminococcus</i>				
	<i>albus</i>	celobiosa, celulosa, hemicelulosa	F, A, E, H, H ₂ C0 ₂ ,	BrFVA, C0 ₂ , NH ₃ , Vit. (A +)
	<i>Flavefaciens</i>	celobiosa, celulosa, hemicelulosa	F,A,S, H ₂	
<i>Butirivibrio</i>				
	<i>fibrisolvens</i>	almidón, pectina, hemicelulosa	F, A, B, L, H ₂ C0 ₂	Br VFA,A, C0 ₂ , NH ₃ , Vit.
<i>Lachnospira</i>				
	<i>multiparus</i>	pectina, azúcares	F,A,L,E, H ₂ C0 ₂	A, Vit.
<i>Selenomonas</i>				
	<i>ruminantum</i>	azúcares, almidón	A, P, L, C0 ₂ , H ₂	A, (C0 ₂)
<i>Metanobacterium</i>				
	<i>ruminantum</i>	formato, H ₂	metano	A, BrVFA, C0 ₂ , NH ₃
PROTOZOARIOS				
<i>Holotrichos</i>				
	<i>Isotricha</i>	almidón y azucares	A, B, L, H ₂	
	<i>Dasytricha</i>	almidón y azucares	A, B, L, H ₂	
<i>Entodinomorfos</i>				
	<i>Entodiniimia</i>	almidón	F, A, B, (L)	
	<i>Epidinium</i>	almidón, hemicelulosa	A,B, H ₂ (F)	
	<i>Ophrioscolex</i>	almidón	A, B, H ₂ ,	
	<i>Eudiplodinium</i>	celulosa	H ₂ , ácidos grasos	
HONGOS				
<i>Neocallismastix</i>				
	<i>patricinaum</i>	celulosa,hemicelulosa	L, A, F, E, C0 ₂	
	<i>frontalis</i>	almidón		
		celulosa	F,E.	
	<i>Piromona cummunis</i>	pectina		

Tomado de Yokoyama y Johnson (1988) y Van Soest (1983)

Simbolos: F, formato; A,acetrato; P,propionato; B, butiratos; BrVFA, ácidos grasos ramificados; E, etanol; lactato; S, succinato; SVFA, ácidos grasos volátiles cadena recta.

ha visto que la mayoría de ellos producen enzimas para degradar polisacáridos de los vegetales (Akin, 1986).

La actividad celulolítica de los hongos se ha visto incrementada si el número de zoosporas viables es $10^3/\text{ml}$ (Ushida *et al.*, 1989, citado por Ushida *et al.*, 1991), aunque ésto ha ocurrido en condiciones de defaunación; probablemente incrementa la población de hongos, y en parte compensa la disminución de la actividad celulolítica por la defaunación (Cheng *et al.*, 1991).

3.7.2. Degradación de las paredes celulares

El consumo de forraje en los rumiantes conduce a un patrón diferente de fermentación comparado con dietas a base de granos; la fermentación es menos ácida y menos probable que existan disturbios digestivos.

En la degradación de alimentos fibrosos, es necesario un desarrollo secuencial de un complejo de microorganismos ecológicamente estables, para que se conforme un consorcio de microorganismos celulolíticos en la superficie de los materiales de la planta. La introducción de especies celulolíticas no es suficiente para iniciar la actividad celulolítica en ausencia de dicha estabilidad ecológica. Por ello, cuando un animal está condicionado a un alimento en particular, el rumen contiene especies microbianas adaptadas para adherirse al interior de los componentes del alimento. Como primer paso, el microorganismo

se adhiere a la partícula, posteriormente se efectúa la colonización microbiana sucesiva en la población adherente, hasta que se forma un consorcio capaz de digerir al sustrato con una máxima tasa de liberación de nutrientes. La adhesión es un prerequisite para iniciar la digestión de los materiales de la planta, ya que este proceso posiciona estratégicamente la célula microbiana en contacto con el sustrato; otros factores incluyendo la formación del consorcio determinan la tasa de digestión (Cheng *et al.*, 1983-84). En la degradación de la celulosa cristalina por las bacterias, la adherencia se plantea vía polielulosomas protuberantes atacando a la superficie celular (Morris y Cole, 1987).

Los forrajes intactos se tornan difíciles a la penetración de los microorganismos, por lo tanto, la ruptura del forraje, ya sea por procesamiento o masticado, hace más accesible la obtención de los nutrientes por los microorganismos (Cheng *et al.*, 1983-84). Las fracciones de alimentos de origen vegetal nutricionalmente pobres, son atacados más lentamente en comparación con aquellos que presentan tejidos más accesibles (Cheng *et al.*, 1991).

La tasa y magnitud de la digestión por separado de especies celolíticas, bacterias, hongos y protozoarios, sólo representa una fracción de lo que se encuentran de manera natural en el rumen. Por otro lado, se ha observado que en la degradación de la pared celular intervienen otras especies no

celulolíticas. Esto explica un importante sinergismo entre especies fibrolíticas y no fibrolíticas, y por lo tanto una eficiente degradación de la celulosa en los rumiantes se logra por que los microorganismos celulolíticos están simbióticamente asociados con especies que remueven los productos de sus enzimas digestivas y por lo tanto aceleran el proceso digestivo (Cheng *et al.*, 1991).

3.7.3. Enzimas microbianas involucradas en la digestión de la fibra

Las bacterias *Fibrobacter succinogenens*, *Ruminococcus albus* y *R. flavefaciens* poseen celulasas, hemicelulasas (Forsberg *et al.*, 1981) y glucosidasas estratégicas como son: α -L-arabinofuranosidasa (Greve *et al.* 1984). *Fibrobacter succinogenes* posee aproximadamente 6 endoglucananasas, 2 celobiosidasas, β -glucosidasa, xilanasa, xilosidasa, acetilana esterasa, ácido ferúlico esterasa, y arabinofuranosidasa (McDermid *et al.*, 1990). Se ha encontrado una relación entre la actividad enzimática con la etapa de crecimiento de las bacterias, sin embargo, es diferente para cada una de las especies. La mayoría de las enzimas presentan una mayor actividad a un pH entre 6.1 y 6.8, sólo algunas endoglucananasas de *F. succinógenes*, y una exoglucanasa de *R. flavefaciens* FD-1 actúan a un pH menor a 6.0 (Cheng *et al.*, 1991).

Los hongos producen una gran cantidad de polisacaridasas: endo β -1,4 glucanasa, exoglucanasa, xilanasa y celodextrinasa (Teather y Onmiga, 1991); y glicosidasas: β -glucosidasa, β -fructosidasa, β -xilosasas, α - L-arabinofuranosidasa (Mountfort y Asher, 1985). Estas enzimas son de acción principalmente extracelular y su producción y acumulación en el medio de cultivo es paralelo al crecimiento del hongo (Pearce y Bauchop, 1985).

Los protozoarios presentan actividad celulolítica bajo un complejo de celulasas abarcando endoglucanasas, celobiosidasas y B-glucosidasas (Chesson y Forsberg, 1988).

3.8. Compuestos fenólicos en la degradación de los alimentos fibrosos

3.8.1. Relación entre compuestos fenólicos en los forrajes y digestibilidad

Se han aislado monómeros fenólicos de las paredes celulares por medio de un tratamiento con alkalis, celulasas o NH_3 .

Los compuestos fenólicos más comunes en paredes celulares que se señalan son: ácido ferúlico, ácido *p*-coumárico, ácido procatecuico, ácido *p*-hidroxibenzoíco, *p*-hidroxibenzaldehido, ácido vanílico y vanilina (Cuadro 4). Se citan diferentes concentraciones de los compuestos en diferentes especies, sin embargo, los ácidos *p*-coumárico y ferúlico son los mayores componentes

en la fracción monomérica. Otros compuestos que se mencionan en bajas concentraciones son el ácido siríngico, siringialdehído y ácidos diméricos: ácido dehidroferúlico, ácido 4,4'-dihidroxi- α -truxílico, así como la combinación en dímeros de los ácidos ferúlico y *p*-coumárico con el alcohol coniferil (Eraso y Hartley, 1990).

Cuadro 4. Compuestos fenólicos detectados en la pared celular de los forrajes (mg/kg de MS)

Especie	AF	APC	AP	APH	PH	AV	V
<i>Panicum virgatum</i> 1/	2976.0	3921.0	t	t	t	-	t
Heno de alfalfa 2/	1009.0	599.0	35.0	476.0	17.4	13.2	46.1
Tallos de <i>Festuca arundinacea</i> 2/	2091.0	2430.0	52.9	44.8	52.7	47.0	108.4
Heno de alfalfa 3/	480.6	506.3	213.9	5.0	4.4	9.5	9.5
Paja de soya 3/	10.3	50.4	220.3	4.8	4.1	12.2	3.2
Heno de pasto bromo 3/	1594.0	1155.1	159.2		5.2	11.5	37.1
Rastrojo de maíz 3/	1714.9	4943.9	148.6	5.3	9.3	8.2	46.6
				6.9			

t: Cantidades traza

AF: Ácido ferúlico

APC: Ácido *p*-coumárico

AP: Ácido procatecuico

APH: Ácido *p*-hidroxibenzoico

PH: *p*-hidroxibenzaldehído

AV: Ácido vanílico

V: Vanilina

1/ Gabrielsen *et al.* (1990)

2/ Jung *et al.* (1983 a)

3/ Jung *et al.* (1983 b)

Las gramíneas contienen mayor cantidad de monoméricos fenólicos en la pared celular con respecto a las leguminosas (Jung *et al.*, 1983b; Eraso y Hartley, 1990).

Los ácidos fenólicos de la pared celular forman enlaces ester a través de sus grupos carboxil en la cadena lateral propano (Jung y Allen, 1995). Los enlaces son formados mediante el grupo hidroxil fenólico, en los carbonos α y β de la cadena lateral o del carbono 5 del anillo (Fig. 6).

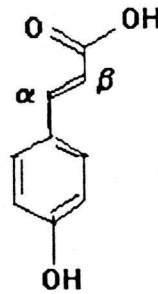


Figura 6. Carbonos del ácido *p*-coumárico que intervienen en el enlace ester

El nivel de los ácidos *p*-coumárico y ferúlico incrementa con la edad del forraje, y pueden llegar hasta un 60 y 55% mayor, respectivamente, en la etapa madura en comparación a la temprana. Lo mismo sucede con la fibra detergente neutro, fibra detergente ácido y lignina, y disminuye consecutivamente el contenido de proteína, digestibilidad de la materia seca, y la relación ácido ferúlico/ácido *p*-coumárico, como se aprecia en el Cuadro 5 (Gabrielsen *et al.*, 1990; Jung *et al.*, 1983b y Hartley 1972).

Cuadro 5. Concentración de compuestos fenólicos y digestibilidad de los forrajes al incrementar la madurez.

Especie	DMS	PC	FDN g/kg	FDA MS	LIGNINA	AF	APC	AF/APC	APH mg/kg	PH MS	AP	AV	V
<i>Lolium multiflorum</i> 1/ Inmaduro	893♦		333	171	6.9	2885	150	18.80					
Maduro	772♦		498	297	18.9	1139	170	6.80					
<i>Lolium multiflorum</i> 2/ Inmaduro			382			3361	1757	1.90					
Maduro			455			2730	1156	2.40					
<i>Medicago sativa</i> 3/ Etapa inmadura	582♦	201	530		82	1040	571	1.80	38.7	13.9	39.0	9.7	23.0
Etapa madura	490♦	158	618		114	979	628	1.50	56.5	21.0	30.9	16.2	69.3
Tallos de <i>Festuca arundinacea</i> 3/ Etapa inmaduros	518♦	120	587		39	1786	1834	0.97	50.0	46.5	71.4	40.4	86.7
Etapa madura	530♦	120	624		42	2395	3026	0.79	39.5	58.9	34.4	53.6	130.2
<i>Panicum virgatum</i> 4/ Etapa inmadura	724★	185	696	305	34	2853	2157	1.36					
Etapa madura	462★	54	769	451	65	2153	4922	0.44					
<i>Panicum virgatum</i> 4/ Etapa inmadura	644★	124	725	340	34	4422	4640	0.96					
Etapa madura	531★	77	757	431	57	5148	6510	0.27					

DMS: Digestibilidad de la materia seca ★ *in vitro* , ♦ *in vivo*..

AF: Acido ferúlic

APC: Acido *p*-coumárico

APH: Acido *p*-Hidroxibenzoíco.

p: *p*-Hidroxibenzaldehido

AP: Acido Procatecuico

AV: Acido vanílico

V:vanilina

1/ Hartley (1972)

2/ Hartley y Jones (1977)

3/ Jung *et al.* (1983b)

4/ Gabrielsen *et al.* (1990)

La presencia de ácidos fenólicos se ha correlacionado negativamente con la digestibilidad de la pared celular (Jung y Allen, 1995). Burrit *et al.* (1984) encontraron una correlación lineal entre la digestibilidad de la materia seca *in vitro* con el contenido de ácido *p*-coumárico y ácido ferúlico de -0.86 ($P<0.01$) y -0.84 ($P<0.01$), respectivamente. Las muestras que presentaron mayor contenido de lignina también manifestaron un mayor coeficiente ácido *p*-coumárico/ ácido ferúlico. Sin embargo, el ácido *p*-coumárico puede tener mayor importancia en los enlaces cruzados con lignina-carbohidratos (Burrit *et al.*, 1984), ya que la mayoría del ácido *p*-coumárico es esterificado con la lignina, conformando un artefacto de simultánea deposición a la lignina (Jung y Allen, 1995; Gabrielsen *et al.*, 1990). Esto puede explicar porqué la presencia de compuestos fenólicos alcali-labiles es hereditable y genéticamente correlacionado con la digestibilidad de la materia seca *in vitro*, sobre todo en especies de baja calidad, ya que en especies con alta calidad, la concentración de lignina se considera como característica dominante para predecir la digestibilidad de la fibra (Jung y Casler, 1991). Otros compuestos fenólicos que se consideran predicen la digestibilidad de los forrajes es la vanilina (Reeves III, 1985) y siringialdehído (Jung y Casler, 1991).

3.8.2. Compuestos fenólicos en el rumen

Los compuestos fenólicos con mayor concentración en el líquido ruminal de animales que están consumiendo forrajes son ácido *p*-coumárico, ácido hidrobenczoico, *p*-hidroxibenzaldehído, ácido procatecuico, ácido vanílico y ácido salicílico (Cuadro 6), otros en menor concentración son los ácidos fenilacético y 3-fenilpropiónico (Patton y Kesler, 1967; Daolio *et al.*, 1989; Marvin *et al.*, 1996), ácido 1-fenilpropiónico, ácido benzoíco, ácido 1-cinámico, ácido 4-hidroxifenilacético, ácido 2-3-hidroxifenilpropiónico, ácido 2-4-hidroxi-3-fenilpropiónico, ácido 2-4-hidroxi-5-metoxifenilpropiónico, ácido 4-hidroxi-3-metoxicinámico, ácido 3-3,4 hidroxicinámico (Daolio *et al.*, 1989), ácido ferúlico y ácido siríngico (Marvin *et al.*, 1996).

Cuadro 6. Compuestos fenólicos encontrados en el rumen

	APC	AH	PH	AP	AV	AS
	mg/litro					
Becerras alimentados con alfalfa 1/	0.240	0.27	0.09	0.94	1.47	
Borregos alimentados con: 2/						
heno de alfalfa	0.05	0.13	0.11	4.53		2.57
heno de pasto bromo	0.12	0.04	0.24	4.12		0.08
rastrojo de maíz	0.22	0.10	0.29	3.82		
paja de soya	0.04	0.05	0.07	2.17		0.22

APC: Acido *p*-coumárico

1/ Jung *et al.*, 1983a

AH: Acido hidroxibenzoíco

2/ Jung *et al.*, 1983b

PH: Acido procatecuico

AV: Acido vanílico

AS: Acido salicílico

La concentración de los ácidos fenólicos monoméricos existentes en la pared celular, disminuyen a medida que transcurre el tiempo de fermentación. Jung (1985) observó una disminución en la concentración de los ácidos cinámico y cafeico de las 12 a las 168 horas de incubación *in vitro*. En el sobrenadante de la fermentación *in vitro* de heno de alfalfa, heno de pasto bromo y rastrojo de maíz, Jung *et al.* (1983a), detectaron diferentes compuestos fenólicos residuales en cada forraje, pero de manera general los ácidos *p*-hidroxibenzoico y vanílico fueron recuperados en mayor porcentaje en los tres forrajes, no así el ácido ferúlico que manifestó la más baja concentración.

3.8.3. Acción de los compuestos fenólicos en la degradación de los carbohidratos estructurales de los forrajes

Para comprobar si los compuestos fenólicos de la planta inhiben la degradabilidad de la celulosa, Darcy y Belyea (1980) sometieron a digestibilidad *in vitro*, muestras de orchardgrass a las que les fue removida la lignina, ésto incrementó la cantidad digestible en un 43%, también se incrementó la tasa a la que se degradó la celulosa.

Cuando los ácidos fenólicos removidos de los forrajes se adicionan a la fermentación *in vitro*, la degradación de la celulosa se deprime (Chesson *et al.*, 1982; Jung y Fahey, 1983; Jung, 1985; Borneman *et al.*, 1986). Entre los ácidos que deprimen con mayor frecuencia la degradabilidad de la celulosa son los ácidos cafeico, *p*-coumárico, ferúlico y salicílico; con menor frecuencia

siringildehído y los ácidos cinámico, vanílico, procatecuico y benzoico (Cuadro 7). Jung (1985) menciona que el efecto de los ácidos fenólicos en la digestibilidad *in vitro* es diferente para la hemicelulosa y celulosa, ya que los ácidos cinámico, benzoico y cafeico manifestaron efecto inhibitorio, en la digestibilidad de la celulosa, de manera lineal a la concentración que se incluyeron.

Los ácidos cinámicos esterificados deprimen la digestibilidad de la celulosa de 5.1 a 48% mayor en comparación a los ácidos cinámicos libres. Por otro lado, los ácidos fenólicos esterificados muestran correlación negativa con la digestibilidad (Goto *et al.*, 1994; Jung *et al.*, 1991); Jung y Sahlú (1986) encontraron valores de -0.94 a -0.98. Esto sugiere que los ácidos cinámicos que se encuentran de manera natural en la pared celular (con enlaces éster) son los que deprimen la digestibilidad.

En sentido contrario a lo anterior, ácidos fenólicos libres, como los ácidos 3-fenilpropiónico y fenilacético, se han considerado como factores de crecimiento para *Ruminococcus albus* 7 y 8. Estos ácidos se han detectado en el líquido ruminal de animales consumiendo forraje, cuyas concentraciones varían dependiendo del tipo de forraje. Los valores de ácido 3-fenilpropiónico que se han encontrado son 322-597 y 660 μM (Cremin *et al.*, 1995; Hungate y Stack, 1982).

Cuadro7. Digestibilidad de la materia seca de la celulosa (%) al incluir compuestos fenólicos en el medio

		Compuestos fenólicos utilizados en el medio de incubación														
Autor		Testigo	AB	APH	AP	AG	AV	V	AS	S	AC	APC	ACa	AF	ASP	ASI
Jung y Fahey (1983)	1/	38.4									38.3	34.1*	31.3*	36.2	37.8	
	2/	38.4									37.0	33.8*	22.2*	32.5*	35.1	
	3/	38.4									37.2	33.5*	5.8*	33.5*	36.3	
Jung (1985)	4/	30.9	25.5*	29.5	29.9	29.3	30.6		30.4		26.1*	29.3	27.5*	28.2*	28.6	
	5/	31.4		30.5	17.1*		33.6	18.1*	31.2	17.7*						
Jung y Sahlu (1986)	6/	94.2			93.4		92.1				93.7			93.2		92.8
	7/	94.2			91.6		86.6				89.7			93.3		66.8*
	8/	94.2			87.6		77.7*				72.0*			91.9		52.0*

AB: Acido benzoico.

APH:Acido *p*-hidroxibenzoico.

AP:Acido procatecuico.

AG:Acido gálico.

AV:Acido vanílico.

V:Vanilina.

AS:Acido siríngico.

S:Sirigialdehido.

AC:Acido cinámico.

APc:Acido *p*-coumárico.

Aca.Acido cafeico.

AF:Acido ferúlico.

Asp:Acido sinápico

ASI:Acido salicílico.

1/, 2/ y 3/: 1,5 y 9% de compuesto fenólico en el medio, respectivamente; 48 horas de incubación.

4/: valores promedio al adicionar 30, 60 y 90 g de compuesto fenólico por kg de sustrato; 48 horas de incubación.

5/: 60 g de compuesto fenólico por kg de celulosa; 48 horas de incubación.

6/, 7/ y 8/: 50, 75 y 100 g de compuesto fenólico por kg de celulosa aislada de papel filtro, respectivamente; 48 horas de incubación.

* Diferentes de la digestibilidad del testigo ($P < 0.05$).

Al incluir ácido 3-fenilpropiónico en el medio de incubación, ya sea mediante la adición de líquido ruminal o de forma sintética, se han obtenido respuestas favorables en la degradación *in vitro* de la celulosa y celobiosa (Cuadro 8). Esto se ha logrado únicamente con cultivos purificados de *Ruminococcus albus* 7 y 8. Ya que en cultivos de *Ruminococcus flavefaciens* FD1 y C94, y *Butirivibrio fibrisolvens* A38, 49 y 12, la adición de 3-fenilpropiónico no mejora la tasa de degradación (Stack y Cotta, 1986; Odenyo *et al.*, 1991). Así mismo cuando se incluyen varias especies de bacterias en el mismo medio, tampoco se manifiesta una mejora en la degradación del sustrato al incluir ácidos 3-fenilpropiónico y fenilacético.

Al utilizar como sustrato paja de trigo, la adición de ácido 3-fenilpropiónico y ácido fenilacético incrementa la digestibilidad por *R. albus* 8, sólo cuando la paja ha sido tratada con peróxido de hidrógeno (Odenyo *et al.*, 1991).

Por otro lado, al someter a digestibilidad *in vitro* muestras de rastrojo de maíz, se ha encontrado una alta correlación positiva (0.67, $P < 0.01$) entre la concentración del ácido 3-fenilpropionico, en el sobrenadante, y la digestibilidad de la materia seca (Marvin *et al.*, 1996). Este efecto lo explican por la acción estimulante del ácido 3-fenilpropiónico hacia las bacterias celulolíticas.

Cuadro 8. Efectos de ácidos libres en el medio de incubación sobre la degradación del sustrato

Autor	Compuesto y concentración	Inóculo	Efecto sobre el sustrato
Hungate y Stack (1982)	Acido 3-fenilpropionico 3 μ M	<i>Ruminococcus albus</i> 8 purificada	Disminuyó el tiempo de digestión en 50% con respecto al testigo. En 24 horas, incrementó en 81% la digestibilidad de la celulosa.
Stack y Hungate (1984)	Acido 3-fenilpropiónico 25 μ M	<i>Ruminococcus albus</i> 8 purificada	Disminuyó el tiempo de degradación de la celulosa de 4 semanas a 3 días. Se detectó mayor cantidad de celulasas de alto peso molecular en comparación con el testigo.
Stack <i>et al.</i> (1983)	Acido fenilacético + ácido 3-fenilpropiónico Se adicionó líquido ruminal, dando una concentración final de 25 μ M ácido 3-fenilpropiónico.	<i>Ruminococcus albus</i> 8	Cuando se incluyeron los dos ácidos el tiempo de digestión fue de 24 horas. Cuando el ácido fenilacético no se adicionó, incrementó el tiempo de digestión de 24 horas a 2 días. Cuando no se adicionó ácido fenilpropiónico, se detuvo el crecimiento microbiano, y la celulosa se degradó en 2 semanas.
Stack y Cotta (1986)	Acido 3-fenilpropionico, 25 μ M.	<i>Ruminococcus albus</i> 7 <i>Ruminococcus albus</i> 8	Incrementó la tasa de degradación de la celulosa de 0.01 a 0.12 /h Incrementó la tasa de degradación de la celulosa de 0.01 a 0.11
Huerta ¹	Acido fenilacético Timol	Líquido ruminal Líquido ruminal	Incrementó en 24.73% la digestibilidad de heno de alfalfa y pasto bromo. Incrementó en 37.67% la digestibilidad de heno de la alfalfa y pasto bromo
Odenyo <i>et al.</i> (1991)	Acido fenilpropiónico (84 μ M) + ácido fenilacético (75 μ M)	<i>Ruminococcus albus</i>	Incrementó la digestibilidad de paja de trigo tratado con peróxido de hidrógeno, en 39%.

¹ Datos no publicados

Huerta (datos no publicados) en una prueba de digestibilidad *in vitro*, utilizando como sustrato heno de alfalfa y pasto bromo, observó un aumento del 12.27% en la digestibilidad al utilizar ácido fenilpropiónico, y un incremento del 18.69 % al adicionar timol.

3.8.4. Interacción entre compuestos fenólicos y la actividad de los microorganismos del rumen

Chesson *et al.* (1982) estudiaron la actividad de las bacterias del rumen ante la presencia de los ácidos *p*-coumárico, ferúlico, hidroxibenzoico, vanílico y 4-hidroxibenzoico. Los ácidos ferúlico y *p*-coumárico deprimieron en mayor grado el crecimiento de las bacterias *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Bacteroides succinogenes* cuando se incluyó en el medio 10 mM de compuesto fenólico. La actividad celulolítica de *R. flavefaciens* y *B. succinogenes* se afectó sustancialmente cuando se incluyó en el medio 5 mM del ácido hidroxicinámico o el ácido 4-hidroxibenzoico (Cuadro 9).

Los monómeros fenólicos pueden inhibir la degradabilidad de la celulosa y del xilano, posiblemente por su influencia en el ataque de los microorganismos fibrolíticos. Varel y Jung (1986) observaron que al incluir ácido cinámico y vanilina en un medio inoculado con líquido ruminal, disminuyó la digestibilidad de la celulosa en 14 y 49% respectivamente. Cuando en lugar de celulosa se adicionó xilano como sustrato, se observó una disminución del 14% en la

degradabilidad al adicionar vanilina, sin embargo el número de bacterias xilanolíticas fue 10 veces mayor que en los cultivos sin monoméros fenólicos. Por otro lado, la tasa de crecimiento de *R. albus* y *R. flavefaciens* fue inhibida por el ácido p-coumárico y por vanilina existente en el medio, aunque no se observó una reducción de la absorbancia, como indicador de la concentración de microorganismos.

Cuadro 9. Efecto de ácidos fenólicos de los forrajes en la actividad celulolítica en las bacterias del rumen

Acido fenólico	Concentración mM	% de actividad celulolítica que se conservó		
		<i>B. succinógenes</i> BL2	<i>R. flavefaciens</i> 7	<i>R. albus</i> SY3
<i>p</i> -Coumárico	1	89	96	100
	5	87	71	83
	10	37	39	55
Ferúlico	1	93	96	97
	5	58	47	84
	10	29	27	81
Plorético	1	100	100	100
	5	100	100	100
	10	31	92	89
4-Hidroxibenzoico	1	96	100	100
	5	63	64	89
	10	62	53	83
Vanílico	1	100	100	100
	5	90	100	100
	10	89	100	100

Chesson *et al.*, 1982.

Recientemente se ha explicado la disminución de la digestibilidad de la pared celular por la existencia de enlaces éster ácidos fenólicos-celulosa-lignina, que bloquean la acción de hidrolasas polisacáridos, y no por una inhibición en el

metabolismo microbiano a causa de la presencia de monómeros fenólicos (Jung *et al.*, 1991; Jung y Allen 1995).

3.8.5. Metabolismo de los compuestos fenólicos en el rumiante

En el líquido ruminal de animales alimentados con forraje, se han detectado ácido p-coumárico, ácido p-hidroxibenzoico, p-hidroxibenzaldehído, ácido procatecuico, ácido salicílico (Jung *et al.*, 1983a), ácido benzoico, ácido cinámico (Cremin *et al.*, 1995), pero en bajas concentraciones en comparación a las encontradas en el forraje ofrecido (Jung *et al.*, 1983a). En el sobrenadante de fermentaciones *in vitro*, además de los anteriores se mencionan el ácido ferúlico, ácido siríngico, ácido vanílico y vanilina. En cambio, compuestos fenólicos libres, que no se detectan en el forraje se encuentran en el líquido en mayor concentración (Cuadro 8): 3-fenilpropiónico y fenilacético, y ácido hidroxifenilacético (Cremin *et al.*, 1995; Marvin *et al.*, 1996).

La desaparición de los ácidos p-coumárico y ferúlico, se atribuye al metabolismo ruminal de éstos ácidos hacia el ácido 3-fenilpropionico. Chesson *et al.*, (1982) señalan que en el fluido ruminal de borregos alimentados con pasto seco, conteniendo 0.51% de ácidos fenólicos, se detectaron los ácidos 3(4-hidroxifenil)propiónico y 3(4-hidroxi-3-metoxifenil) propiónico, originados por la hidrogenación que realizan las bacterias ruminales en la cadena lateral

de los ácidos hidroxicinámicos (Fig. 7). Martin (1982) sugieren que el ácido 3-fenilpropiónico, compuesto fenólico encontrado en mayor concentración en líquido ruminal, puede ser originado de los ácidos 3(4-hidroxifenil)propiónico y 3(4-hidroxi-3-metoxifenil) propiónico. Dicha hidrogenación se efectúa debido a que la forma reducida los ácidos fenólicos son menos tóxicos para los microorganismos (Chesson *et al.*, 1982).

Los ácidos reducidos del rumen se absorben (Martin, 1982), se vierten a la sangre y posteriormente llegan al hígado. Los fenólicos reducidos que se han detectado en la sangre venosa portal hepática son el 3-fenilpropiónico y el ácido benzoico; la concentración del primero se ha visto correlacionado con el consumo de los ácidos p-coumárico y ferúlico. Posiblemente a partir de ellos el tejido periférico sintetiza los ácidos benzoico e hipúrico que se han detectado en el hígado. Finalmente el ácido hipúrico se excreta via orina, y su concentración se aumenta conforme se incluye ácidos p-coumárico y ferúlico en la dieta, sin embargo su excreción incrementa en orina el nivel de nitrógeno con hipurato. En el tejido hepático, *in vitro*, los ácidos benzoico, 3-fenilpropiónico y 3-(4-hidroxifenil) propionico disminuyen la conversión de propionato a glucosa y la conversión de palmitato a productos de oxidación (Cremin *et al.*, 1994 y 1995).

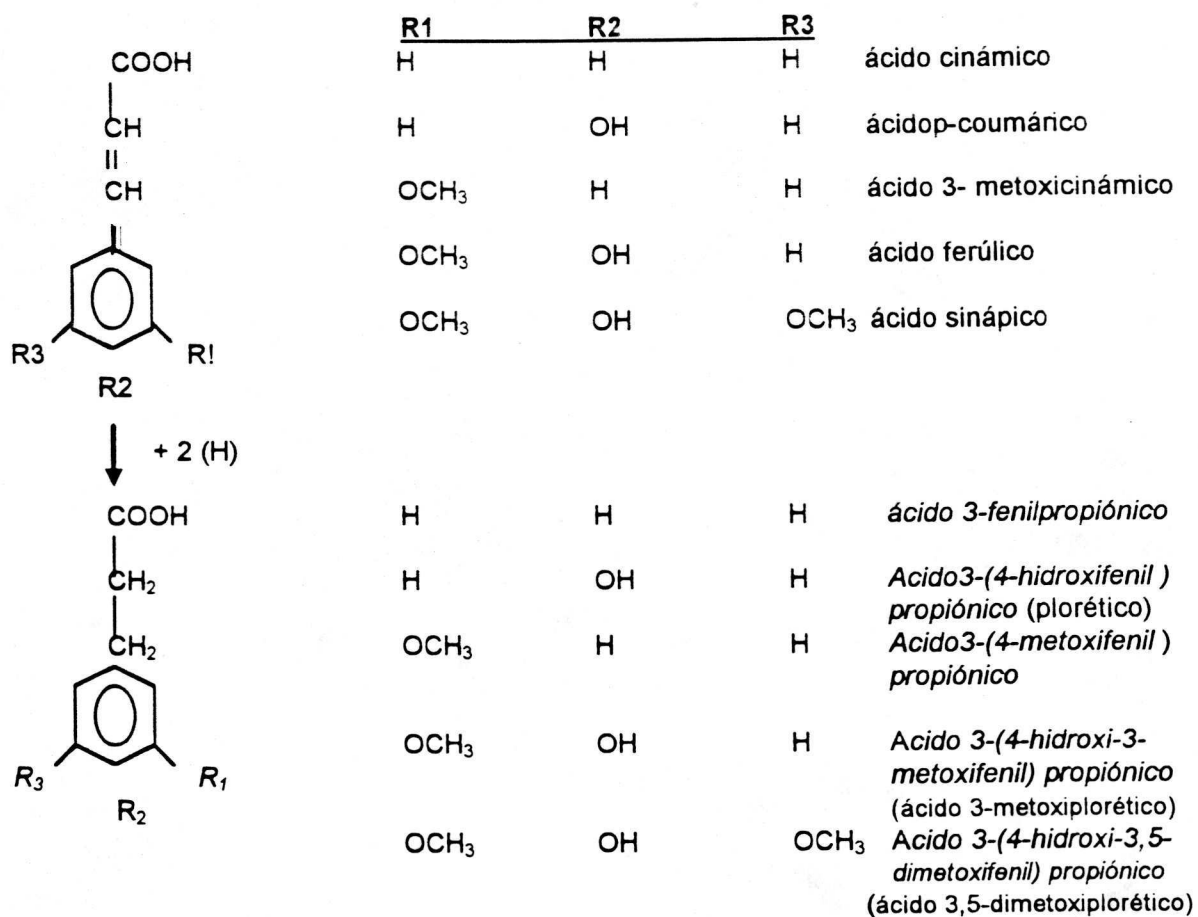


Figura 7. Hidrogenación de los monómeros fenólicos (Chesson et al., 1982).

4. HIPÓTESIS

La inclusión de compuestos fenólicos en una dieta a base de rastrojo de maíz, incrementa la digestibilidad de MS, FDN y FDA, tanto *in vitro* como *in vivo* en ovinos.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Digestibilidad *in vivo*

5.1.1. Localización

El experimento se realizó en las instalaciones adjuntas al Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo. Este lugar se ubica a 19° 20' de latitud Norte y 98° 53' de longitud Oeste, a una altura de 2250 msnm. El clima de la región es C(W°)(W)b (i')g, templado, el más seco de los templados subhúmedos, con régimen de lluvias en verano, una precipitación anual de 636.5 mm, y una temperatura media anual de 15.2°C (García, 1981).

5.1.2. Duración del experimento

Los animales fueron adaptados a la dieta en un periodo de 15 días. Posteriormente se alojaron en corraletas individuales y a cada uno se le sujetó un arnés en el tren posterior. En estas condiciones se mantuvieron por 7 días, con la finalidad de lograr su adaptación al manejo en las corraletas y una estabilización en el consumo de alimento. Finalmente, 7 días posteriores se

destinaron a la recolección de muestras. Por lo tanto el experimento tuvo una duración de 29 días.

5.1.3. Tratamientos

Se utilizaron 5 tratamientos, los cuales se conformaron a partir de la inclusión de ácido hidrocinámico y timol en una dieta a base de rastrojo de maíz, como se indica a continuación:

- a) Testigo. Los animales se alimentaron con la dieta basal (Cuadro 10).
- b) Testigo más la adición de 0.025% de timol.
- c) Testigo más la adición de 0.05% de timol.
- d) Testigo más la adición de 0.025% de ácido hidrocinámico.
- e) Testigo más la adición de 0.05% de ácido hidrocinámico.

5.1.4. Diseño experiemental y distribución de animales

El experimento se realizó conforme a un diseño completamente al azar, con 4 repeticiones por tratamiento, y se consideró como una unidad experimental un borrego alojado en una corraleta.

Se utilizaron 20 borregos criollos, con un peso promedio de 30 kg, los cuales se distribuyeron aleatoriamente en los tratamientos.

Cuadro 10. Nivel de inclusión de los ingredientes y composición de la dieta utilizada en el experimento.

Ingredientes	Cantidad (% en base seca)
Rastrojo de maíz ¹	70.91
Sorgo molido	25.40
Gluten de maíz	1.60
Urea	1.20
Sal común	0.25
Ortofosfato de calcio	0.59
Premezcla mineral ²	0.05
Composición	
Energía metabolizable (Kcal/kg)	2,369.00
Proteína cruda (%)	7.60
Calcio (%)	0.51
Fósforo (%)	0.23

¹ Molido con molino provisto de malla de 5 mm.

² Composición (%): Mn, 5.01; Co, 0.02; Cu, 1.6; Zn, 5.9; I, 0.1 y Se, 0.02.

5.1.5. Manejo

Al inicio del experimento los animales fueron desparasitados con Dectiver (5 mg de Ivermectina/aminal), vitaminados con vitamina ADE (500,000; 75,000 y 50 UI/animal), vía intramuscular. El pesaje de los animales se realizó al inicio y al final del experimento.

Los animales dispusieron de agua a libre acceso. Se les ofreció alimento *ad libitum* (15% más a la cantidad consumida un día anterior), suministrado 3 veces al día (7:30, 13:00 y 18:30 horas). Desde que a los animales les fueron adaptados los arneses, se recolectaron heces dos veces al día (7:00 y 18:00 horas). Se pesó alimento ofrecido, rechazado y cantidad de heces recolectadas.

5.1.6. Obtención de muestras

Para cada animal, se tomaron muestras de alimento ofrecido y rechazado; éstas se depositaron en bolsas de polietileno y se conservaron para su posterior análisis en laboratorio.

Durante los últimos 7 días del experimento, cada vez que se realizó la recolección de heces, se obtuvieron muestras que representaron un 20% de la cantidad recolectada. Estas se depositaron en bolsas de papel y se sometieron a secado a una temperatura entre 55 a 60°C. Posteriormente fueron pesadas y conservadas para su análisis en laboratorio.

5.1.7. Análisis de laboratorio

En las muestras recolectadas (alimento ofrecido, rechazado y heces), por triplicado, se determinó materia seca (Harris, 1970), fibra detergente neutro (Van Soest, 1967) y fibra detergente ácido (Van Soest, 1963). Estos análisis se realizaron en el laboratorio de Nutrición de Rumiantes del Departamento de Zootecnia en la Universidad Autónoma Chapingo.

5. 1.8. Variables de respuesta

Consumo de materia seca (CMS). Se calculó mediante la diferencia de cantidad de materia seca ofrecida y la cantidad de materia seca rechazada, en g/animal/día.

Digestibilidad de materia seca (DMS), fibra detergente neutro (DFDN) y fibra detergente ácido (DFDA). Se calculó dividiendo la diferencia de la cantidad del componente consumido y excretado, entre la cantidad consumida del mismo, multiplicado por 100 para expresarlo en porcentaje (Harris, 1970).

Cambio de peso. Debido a que el periodo fue corto para medir la ganancia de peso, la diferencia del peso final y el peso inicial de los animales, dividido entre el número de días que separó ambos pesajes, se le denominó cambio y se expresó en g/animal/día.

5. 1.9. Análisis estadístico

Los valores calculados de CMS, DMS, DFDN, DFDA y cambio de peso se sometieron a un análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (1985), y a una comparación de medias con la prueba de Duncan (Steel y Torrie, 1980). El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta (CMS, DMS, DFDN, DFDA, cambio de peso) del i -ésimo tratamiento y, j -ésima repetición.

μ = Media general.

τ_i = Efecto del i -ésimo tratamiento.

$i = 1, 2, 3, 4 \text{ y } 5$

ε_{ij} = Error experimental.

$j = 1, 2, 3 \text{ y } 4$

5.2. Digestibilidad de la materia seca *in vitro*

5.2.1. Tratamientos

En la prueba de digestibilidad *in vitro* se utilizaron tres tipos de sustrato: 1) alimento utilizado en cada uno de los tratamientos de la prueba de digestibilidad *in vivo*, 2) alimento utilizado en el testigo de la prueba de digestibilidad *in vivo*, al cual se le adicionó timol y ácido hidrocínámico a dos concentraciones (0.025 y 0.05%), al momento de la incubación, y 3) hojas de papel molido, que se le agregó timol y ácido hidrocínámico a dos concentraciones (0.025 y 0.05%), al ser incubadas las muestras. Los tratamientos conformados se presentan en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Tratamientos utilizados en la prueba de digestibilidad *in vitro*.

Tratamiento	Tipo de sustrato utilizado		
	Alimento utilizado en la prueba de digestibilidad <i>in vivo</i>	Alimento utilizado en el testigo de la prueba de digestibilidad <i>in vivo</i>	Papel
Testigo	Alimento utilizado en cada uno de los respectivos tratamientos de la prueba de digestibilidad <i>in vivo</i>	Alimento	Papel
Timol (0.025%)		Alimento + 0.025% de timol	Papel +0.025 % de timol
Timol (0.05%)		Alimento + 0.05% de timol	Papel +0.05 % de timol
Acido hidrocínámico (0.25%)		Alimento + 0.025% de ácido hidrocínámico.	Papel +0.05 % de ácido hidrocínámico
Acido hidrocínámico (0.25%)		Alimento + 0.05% de ácido hidrocínámico	Papel +0.025 % de ácido hidrocínámico

5.2.2. Técnica utilizada

Las muestras de cada uno de los tipos de sustrato se sometieron a incubación, con líquido ruminal por 72 horas, conforme a la técnica establecida por MelleMBERGER *et al.* (1970).

5.2.3. Diseño experimental, variables respuesta y modelo estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial, 3x5: tres tipos de sustrato y en cada uno se utilizaron 5 tratamientos. La variable respuesta que se midió fue la digestibilidad de la materia seca *in vitro*; dichos valores

fueron analizados mediante el procedimiento GLM de SAS (1985) y se sometieron a una comparación múltiple de medias con la prueba de Duncan (Steel y Torrie, 1980), de acuerdo al siguiente modelo.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Variable respuesta (digestibilidad de la materia seca *in vitro*), del j-ésimo nivel de B e i-ésimo de A.

μ = Media general.

A_i = Efecto del factor A al nivel i. $i = 1, 2, \text{ y } 3.$

B_j = Efecto del factor B al nivel j. $j = 1, 2, 3, 4 \text{ y } 5.$

$(AB)_{ij}$ = Efecto de la interacción AB al nivel i,j.

ε_{ij} = Error experimental.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de las variables respuesta calculadas (CMS, DMS, DFDN, DFDA y cambio de peso) en la prueba de digestibilidad *in vivo* se presentan en el Cuadro 12.

La digestibilidad de la materia seca y FDA tendieron a ser afectadas ($P=0.16$, $P=0.09$, respectivamente) por los tratamientos. Mientras que la digestibilidad de la FDN, consumo de materia seca (g/día y g/kg $PV^{0.75}$) y cambio de peso no fueron afectadas ($P > 0.2$).

La digestibilidad de la materia seca, de la dieta que incluyó 0.05% de timol fue 7.27% mayor ($P < 0.05$) que la encontrada cuando se incluyó 0.025% de ácido hidrocínámico. Estos promedios no fueron diferentes ($P > 0.05$) del resto de los tratamientos.

El valor de digestibilidad en el testigo es inferior al encontrado por Hernández (1993) y Toledo (1987), quienes señalan 62.8 y 56.19 % al ofrecer una dieta con 71 y 70% de rastrojo de maíz, respectivamente; muy semejante al encontrado por González y González (1990) con una dieta con 70.74% de rastrojo de maíz.

Cuadro 12. Valores promedio de DMS, DFDN, DFDA, CMS y cambio de peso

Tratamientos	Digestibilidad de la materia seca		Digestibilidad de la fibra detergente neutro		Digestibilidad de la fibra detergente ácido		Consumo de materia seca				Cambio de peso	
	(%)	EEM	(%)	EEM	(%)	EEM	(g/día)	EEM	(g/kgPV ^{0.75})	EEM	(g/día)	EEM
Testigo	53.8 ^{ab}	1.13	48.2 ^a	2.01	38.3 ^{ab}	1.34	930.7 ^a	42.26	71.2 ^a	7.51	152.3 ^a	26.83
Timol (0.025%)	53.1 ^{ab}	1.34	49.8 ^a	1.12	42.3 ^a	1.48	863.6 ^a	92.84	64.8 ^a	5.14	180.0 ^a	24.96
Timol (0.05%)	54.9 ^a	1.28	50.4 ^a	2.18	40.4 ^{ab}	2.83	930.7 ^a	56.45	64.0 ^a	0.99	175.0 ^a	10.22
Acido hidrocínámico (0.025)	50.9 ^b	0.49	45.8 ^a	2.76	34.5 ^b	2.35	852.5 ^a	29.23	66.6 ^a	4.58	99.0 ^a	39.78
Acido hidrocínámico (0.05%)	52.5 ^{ab}	0.93	48.7 ^a	1.37	41.6 ^a	1.64	995.7 ^a	61.91	75.5 ^a	2.98	112.5 ^a	28.19
Probabilidad	0.16		0.53		0.09		0.47		0.43		0.19	

^{a,b} Medias en la misma columna sin una letra en común son diferentes (P<0.05). EEM, error estándar de la media.

Los promedios de DFDN no fueron significativamente ($P>0.05\%$) diferentes entre tratamientos, sin embargo, el menor valor numérico lo manifestó el tratamiento con 0.025% de ácido hidrocínámico y el mayor el que incluyó 0.05% de timol. El valor de digestibilidad de FDN en el testigo es inferior a 62.56% encontrado por Hernández (1993) quien ofreció una dieta con 71% de rastrojo de maíz; y ligeramente inferior al 52.0% indicado por González y González (1990), al probar una dieta con 71.5 % de rastrojo de maíz.

En cuanto a la digestibilidad de la fibra detergente ácido, los tratamientos con 0.025% de timol y 0.05% de ácido hidrocínámico fueron significativamente ($P>0.05$) mayores en 18.44 y 17.06%, respectivamente, al promedio de DFDA cuando se incluyó 0.025% de ácido hidrocínámico. Ambos valores de DFDA no fueron diferentes ($P>0.05$) de los tratamientos restantes. El valor de digestibilidad de FDA en el testigo, es semejante al que indican González y González (1990), quienes proporcionaron una dieta con 71.5 % de rastrojo de maíz.

No existen trabajos en los que se hayan probado compuestos fenólicos libres *in vivo*, sólo se han incluido monómeros existentes en la pared celular de los vegetales; en dicho caso, Lowry *et al.*, (1993) encontraron que el consumo y la digestibilidad de la materia seca no se afectaron por la inclusión de *p*-coumárico y ferúlico en la dieta, a diferencia de lo que se observó *in vitro*, donde si hubo efecto. Se puede corroborar que los resultados positivos al

8. LITERATURA CITADA

- Akin, D. E. 1986. Chemical and biological structure in plants as related to microbial degradation of forage cell wall. In: L. P. Milligan, W. L. Grovum y A. Dobson (Eds.). Control of Digestion and Metabolism in Ruminants. pp. 139-158. Prentice - Hall, Englewood Cliffs, NY.
- Akin, D. E. 1989. Plant structure and forage quality. Agron. J. 81:17.
- Alvarado Mata, M. y V. E. Carrillo Flores. 1993. Efecto de la suplementación mineral con niveles de energía y proteína en cabritos alimentados con dietas a base de rastrojo de maíz. Tesis Profesional. Departamento de Zootecnia. Universidad autónoma Chapingo. Chapingo, México. 49 p.
- Arciaga, C. S. V. A. Gómez . 1991. Estrategias de utilización del rastrojo de maíz y grano de sorgo en la alimentación del borrego de pelo. Tesis Profesional. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 55 p.
- Baltazar, N. P. y A. N. Meza, 1990. Engorda de borregos con diferente nivel de hoja o tallo de rastrojo de maíz. Tesis Profesional. Departamneto de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 80 p.
- Barz, W. and K. M. Weltring. 1985. Biodegradation of aromatic axtrractives of wood. In: T. Higuchi (Ed.). Biosintesys and Biodegradation of Wood Components. pp. 607-666. Academic Press. New York.
- Besle, J. M., A. Cornu and J. P. Jouany. 1994. Roles of structural phenylpropanoids in forage cell wall digestion. J. Sci. Food Agric. 64: 171.
- Bonilla, C. J. A., G. Ll. Llamas, G. R. Amaro y C. O. Reynoso. 1991. Efecto de la suplementación sobre el aprovechamiento de dietas a base de rastrojo de maíz. I. Diferentes niveles de proteína y energía. Memoria. Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. pp. 53-56. Tepic, Nayarit.
- Borneman, W. S., D. E. Akin, and W. P. Van Eseltine. 1986. Effect of phenolic monomers on ruminal bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 52:1331.

adicionar timol y ácido fenilacético en pruebas *in vitro* (Huerta, datos no publicados) no se manifestaron *in vivo*, al ser incluidos en la dieta de los animales. Lo anterior se puede atribuir a varios factores, entre ellos a que normalmente se encuentra el ácido 3-fenilpropiónico en el líquido ruminal de animales consumiendo dietas a base de forrajes toscos (Patton y Kesler, 1967; Odenyo, *et al.*, 1991; Marvin *et al.*, 1996), y por lo tanto al adicionarlos en la dieta no generan respuesta adicional positiva, con respecto a la respuesta que se podría generar con aquellos alimentos cuya calidad es muy pobre, y donde la concentración de ácido 3-fenilpropiónico y fenilacético es extremadamente baja (Odenyo, 1993). En digestibilidad *in vitro*, se ha encontrado una correlación positiva (0.67) entre la concentración de 3-fenilpropiónico en el sobrenadante y la digestibilidad de la materia seca en la planta del maíz (Marvin *et al.*, 1996). Por otro lado, se ha obtenido respuesta positiva al incluir ácido 3-fenilpropiónico y fenilacético en el medio de cultivo, sólo al utilizar como inóculo, cultivos puros de *Ruminococcus albus* 7 y 8 (Hungate y Stack, 1982; Stack *et al.*, 1983; Stack y Hungate, 1984; Stack y Cotta, 1986). Sin embargo sabemos que en el rumen existe una población de varios tipos microbianos, por lo tanto puede generarse un efecto diferente para cada uno. Finalmente, el timol se utiliza como desparasitante en gatos (Budavari *et al.*, 1989), y no sabemos que efecto puede causar a los protozoarios ruminales.

El consumo diario de materia seca no manifestó diferencia significativa ($P>0.05$) entre tratamientos, sin embargo numéricamente consumieron más alimento los animales cuya dieta incluyó 0.05% de ácido hidrocínámico, y

menor en aquellos que su dieta incluyó 0.025% de ácido hidrocínámico. Los valores en el testigo fueron semejantes a los reportados (902 y 934 g MS/día) por Toledo (1987), quien ofreció una dieta de 70% de rastrojo de maíz y 30% de concentrado; ligeramente inferior a los valores obtenidos por González y González (71,5% de rastrojo de maíz), y por Hernández (1993); mayores al indicado (707 g MS/día) por Alvarado y Carrillo (1993), que ofrecieron una dieta con 75% de rastrojo de maíz y 25% de concentrado.

Cuando el consumo de materia seca se expresó en $\text{g/PV}^{0.75}$, aunque no se observó diferencia significativa ($P>0.05$) entre tratamientos, el mayor consumo se presentó con el tratamiento de 0.05% de ácido hidrocínámico, el menor se observó cuando se adicionó 0.05% de timol. El valor obtenido en el testigo, es inferior a los valores indicados por González y González (1990), Arciaga y Gómez (1991), Toledo (1987) y Alvarado y Carrillo (1993), quienes ofrecieron una dieta con 71.5, 71.5, 70 y 75% de rastrojo de maíz respectivamente; sin embargo es igual al señalado por Pelaez (1979), que proporcionó una dieta con 72% de rastrojo de maíz.

No se encontró diferencia significativa ($P>0.05$) en el cambio de peso, numéricamente se registró el mayor promedio cuando se adicionó 0.025% de timol en la dieta, y el menor valor en el tratamiento con 0.025% de ácido hidrocínámico.

La adición de 0.025% del ácido hidrocínámico, numéricamente expresó una depresión en las variables calculadas, ya que los valores inferiores se manifestaron en éste tratamiento, a excepción del consumo expresado como g/kg PV^{0.75}. Sin embargo, cuando se adicionó al 0.05%, se manifestó el mayor consumo. Esto nos indica que su acción difiere en relación a la concentración que se incluye, una baja concentración (0.025%) disminuye numéricamente el consumo diario, y a mayor nivel de inclusión (0.05%) lo mejora. El timol, en los dos niveles de su inclusión se presentaron los dos valores más bajos de consumo por unidad de peso metabólico (g/kg PV^{0.75}). Por lo anterior, se puede suponer que los compuestos fenólicos ejercen un efecto negativo sobre el consumo de alimento. Lo cual coincidiría con el efecto que tiene la fenilpropanolamina (compuesto fenólico) en humanos, ya que es el ingrediente activo de algunos medicamentos utilizados para disminuir el peso, vía disminución del consumo.

Por otro lado, los mayores valores de DFDA y cambio de peso se encontraron en el tratamiento con timol al 0.025%, así mismo, los mayores valores en DMS y DFDN con la inclusión de 0.05% del mismo compuesto, todos sin ser diferentes del testigo.

En lo que respecta a la prueba de digestibilidad *in vitro*, se encontró un efecto significativo ($P < 0.0001$) de los tratamientos y tipos de sustratos utilizados, sobre la digestibilidad de la materia seca *in vitro* (DMSIV). En cuanto a

tratamientos, de manera general para todos los sustratos, el testigo presentó la mayor DMSIV ($P < 0.05$) en comparación a los tratamientos que incluyeron compuestos fenólicos (Cuadro 13). Lo cual nos indica un efecto depresivo de los compuestos fenólicos sobre la digestibilidad de la materia seca.

Cuadro 13. Valores promedio de digestibilidad de la materia seca *in vitro* para todos los sustratos utilizados.

Tratamiento	Promedio	
Testigo	59.12	^a
Timol (0.025%)	55.16	^b
Timol (0.05%)	54.92	^b
Acido hidrocínamico (0.025%)	54.35	^b
Acido hidrocínámico (0.05%)	54.15	^b

^{a, b} Medias en la misma columna sin una letra en común son diferentes ($P < 0.05$).

Para los diferentes tipos de sustratos utilizados en cada uno de los tratamientos, el papel presentó los mayores valores ($P < 0.05$) de DMSIV, con respecto al alimento testigo de la prueba de digestibilidad *in vivo*, que se le adicionó los compuestos fenólicos al momento de la incubación *in vitro*. Este a su vez fue mayor significativamente ($P < 0.05$) en comparación a la DMSIV cuando se incluyó como sustrato el alimento utilizado en cada uno de los tratamientos de la prueba de digestibilidad *in vivo* (Cuadro 14).

Cuadro 14. Digestibilidad *in vitro* de los diferentes sustratos utilizados en diferentes los tratamientos

Tipo de sustrato	Promedio
Alimento respectivo de cada tratamiento en la prueba de digestibilidad <i>in vivo</i>	48.19 ^c
Alimento testigo utilizado en la prueba de digestibilidad <i>in vivo</i> , que se le adicionó compuestos fenólicos a su respectiva concentración en el momento de incubación	52.76 ^b
Papel que se le adicionó compuestos fenólico al momento de la incubación	66.82 ^a

^{a,b y c} Medias en la misma columna sin una letra en común son diferentes (P<0.05).

La digestibilidad mayor en el papel se puede explicar por que representa una forma más pura de la celulosa, por lo tanto existe menos interferencia de las paredes celulares en comparación a lo que sucede con los esquilmos agrícolas. Por otro lado, la diferencia que se encontró con el alimento utilizado en cada uno de los tratamientos de la prueba de digestibilidad *in vivo* y el alimento utilizado como testigo que se le adicionó compuestos fenólicos al momento de la incubación, ambos en la prueba *in vitro*, se puede atribuir a que el primero los compuestos fenólicos tardaron más tiempo con el alimento, lo que pudo dar origen a reacciones de los compuestos con el alimento o con el ambiente (oxidación - reducción, cambio de estructura) y por lo tanto de su efecto.

Los valores de digestibilidad para la interacción tipo de sustrato y tratamiento utilizado (P<0.0001) se indican en el Cuadro 15. Se puede apreciar que la

DMSIV del alimento, utilizado en los respectivos tratamientos en la prueba de digestibilidad *in vivo*, con timol a los dos niveles y ácido hidrocínámico al 0.025 % fueron inferiores significativamente ($P < 0.05$) en 18 a 22 % en comparación al testigo y al tratamiento que incluyó 0.05% de ácido hidrocínámico. Estos valores coinciden con los de la digestibilidad *in vivo*, donde el menor valor fue para el tratamiento con 0.025% de ácido hidrocínámico, y los mayores para el testigo y con 0.05% de ácido hidrocínámico.

Cuando el alimento testigo, utilizado en la digestibilidad *in vivo*, se le adicionó compuestos fenólicos al momento de la incubación no hubo diferencia significativa ($P > 0.05$) de DMSIV entre tratamientos, siendo numéricamente el menor cuando se adicionó 0.05% de ácido hidrocínámico y el mayor cuando se adicionó 0.025 % de timol. A diferencia de los resultados de DMS *in vivo*, aquí no se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento con 0.025% de ácido hidrocínámico y con 0.05% de timol.

Los valores de DMSIV, cuando se utilizó el alimento de la prueba de digestibilidad *in vivo*, ya sea el alimento de cada uno de los tratamientos o el testigo que se le adicionó compuestos fenólicos al ser incubados, sólo coincidieron en el testigo y cuando se adicionó 0.05% de ácido hidrocínámico, ambos sin ser diferentes entre sí ($P < 0.05$, Cuadro 15).

Cuadro 15. Valores promedio de DMSIV de los diferentes sustratos en cada tratamiento.

Tratamiento	Tipo de sustrato		
	Alimento utilizado en cada uno de los tratamientos de la prueba de digestibilidad <i>in vivo</i>	Alimento del testigo de la prueba de digestibilidad <i>in vivo</i> más compuestos fenólicos al ser incubado	Papel
Testigo	53.49 ^d	53.27 ^d	74.37 ^a
Timol (0.025%)	43.83 ^e	54.70 ^d	64.13 ^c
Timol (0.05%)	43.50 ^e	52.80 ^d	65.70 ^{cb}
Acido hidrocínamico (0.025%)	42.30 ^e	52.93 ^d	68.30 ^b
Acido hidrocínámico (0.05%)	54.28 ^d	50.76 ^d	62.50 ^c

^{a,b,c,d y e} Medias sin una letra en común son diferentes ($P < 0.05$).

El papel, que representó un sustrato más puro de celulosa, su DMSIV en el testigo fue mayor ($P < 0.05$) en comparación cuando se adicionó 0.025% de ácido hidrocínámico y éste a su vez mayor ($P < 0.05$) de los tratamientos que incluyeron 0.025% timol y 0.05% de ácido hidrocínámico; el tratamiento con 0.05% de timol no presentó diferencia significativa ($P < 0.05$) con los últimos tres tratamientos citados anteriormente. La adición de compuestos fenólicos afectó la degradación del papel, la mayor depresión se manifestó cuando se adicionó 0.05% de ácido hidrocínámico.

En los resultados de la prueba de digestibilidad *in vitro*, no se observa un efecto positivo de los compuestos fenólicos, y es contrariamente a lo que obtuvieron Hungate y Stack (1882); Stack *et al.* (1983); Stack y Hungate (1984); Stack y Cotta, (1986). Sin embargo, ellos utilizaron cultivos puros de *Ruminococcus albus* 8. Algunos valores obtenidos en éste trabajo expresan una depresión en la digestibilidad, lo que concuerda con los resultados que se indican al incluir monómeros fenólicos en el medio de incubación en las pruebas de digestibilidad *in vitro*, donde se han obtenido respuestas negativas (Jung *et al.*, 1989).

El efecto de compuestos fenólicos al incluir papel como sustrato, es semejante al encontrado cuando se incluyen monómeros fenólicos en el medio de incubación (Jung, 1985; Jung y Fahey, 1983; Jung y Sahlu, 1986), que se manifiesta una depresión en la digestibilidad de la celulosa.

La producción de compuestos fenólicos en el sobrenadante de las incubaciones *in vitro*, difieren de los producidos en el rumen de animales consumiendo dichos compuestos (Eraso y Hartley, 1990), lo cual conduce a resultados diferentes *in vitro* e *in vivo* (Lowry *et al.*, 1993).

7.CONCLUSIONES

La adición de compuestos fenólicos en la dieta no mejoró la digestibilidad de la materia seca, digestibilidad de la fibra detergente neutro, digestibilidad de la fibra detergente ácido y consumo de materia seca.

La digestibilidad de la materia seca *in vitro* se deprimió cuando el alimento utilizado en la prueba de digestibilidad *in vivo* incluyó timol 0.025% y 0.05%, y ácido hidrocínámico a 0.025%.

La digestibilidad *in vitro* de la materia seca del alimento utilizado en la prueba de digestibilidad *in vivo*, y aquel que se le adicionó compuestos fenólicos al momento de ser incubado, no manifestaron el mismo comportamiento, lo que sugiere que existe un cambio en la acción de los compuestos.

No existió el mismo comportamiento en digestibilidad de la materia seca obtenidos *in vivo* e *in vitro* , para los diferentes tratamientos.

- Budavari, S., J. M. O'Neil and A. Smith. 1989. The Merck Index. An encyclopedia of chemicals drugs and biologicals. 11a. edición. Merck & Co. 1606 p.
- Burritt, E. A., A. S. Bittner, J. C. Street and M. J. Anderson. 1984. Correlations of phenolic acids and xylose content of cell wall with *in vitro* Dry Matter Digestibility of Three Maturing Grasses. J. Dairy Sci 67:1209.
- Brett, C. and K. Waldron. 1990. Physiology and biochemistry of plant cell walls. pp. 40-57. Unwin Hyman. London.
- Cabrales, F. J. M. y J. J. F. Castellanos. 1990. Rendimiento y calidad del rastrojo de maíz de diferentes genotipos de maíz cultivados bajo varias densidades de población. Tesis profesional. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 74 p.
- Castañeda, F. E. A. y A. V. J. Monroy. 1984. Métodos de procesamiento de subproductos agrícolas para elevar su valor nutricional. Memoria. Seminario Utilización de Subproductos Agroindustriales en la Alimentación de Rumiantes. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. pp. 25-59.
- Corona, G. L. 1996. Resultado de investigación con *Saccharomyces cerevisiae* en dietas basadas en esquilmos. Mem. Curso Internacional Avanzado de Nutrición de Rumiantes. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. Mexico.
- Cremin, J. D. Jr. J. K. Drackley, D. E. Grum, L. R., Hancin and G. C. Fahey, Jr. 1994. Effects of reduced phenolic acids on metabolism of oropionate and palmitate in bovine liver tissue *in vitro* J. Dairy Sci. 77:3608.
- Cremin, J. D. Jr., K. R. McLeod, D. L. Harmon, A. L. Goestch, L. D. Bourquin, and G. C. Fahey, Jr. 1995. Portal and hepatic fluxes in sheep and concentrations in cattle ruminal fluid of 3-(4- hydroxyphenyl) propionic, benzoic, 3-phenylpropionic, and *trans*- cinnamic acids. J. Anim. Sci. 73: 1766.
- Cheng, K. J., C. W. Forsberg, H. Minato y J. W. Costerton. 1991. Microbial ecology and physiology of feed degradation within the rumen. *In*: T. Tsuda, Y. Sasaki y R. Kawashima (Eds.). Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants. pp. 595-624. Academic Press, Inc.
- Cheng, K. J., J. P. Fahey, R. E. Howarth and J.W. Costertum. 1983. Electron microscopy of bacteria involved in the digestion of plant cell wall. Anim. Feed Sci. Technol. 10:93-120.

- Cheng, K. J., C. S. Stewart, D. Dinsdale and J. W. Costerton. 1983-1984. Electron microscopy of bacteria involved in the digestion of plant cell walls. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 10:93-120.
- Chesson A. and C. W. Forsberg. 1988. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. *In: P. N. Hobson (Ed). The Rumen Microbial Ecosystem.* pp. 251-282. Elsevier Applied Sci., Londres.
- Chesson, A., C. S. Stewart, y R. J. Wallace. 1982. Influence of plant phenolic acids on growth and cellulolytic activity of rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 597.
- Daolio, S., M. Bonsembiante, G. Bittante, M. Ramanzin, and P. Rinaldo. 1989. Ruminal organic acid analysis by gas chromatography/mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 37:971.
- Darcy B. K. and R. L. Belyea. 1980. Effects of delignification upon in vitro digestion of forage cellulose. *J. Anim. Sci.* 51:798.
- Dehority, B. A. and H. W. Scott. 1967. Extent of cellulose and hemicellulose digestion in various forages by pure cultures of rumen bacteria. *J. Dairy Sci.* 50: 1136.
- Dearriba, J. C. 1988. Fisiología y Bioquímica de la Digestión en el Rumiente. Editorial Oriente, Santiago de Cuba. pp. 37.
- Durand, M. 1989. Conditions for optimizing cellulolytic activity in the rumen. *In: M. Chenost and P. Reiniger (Ed.). Evaluation of Straws in Ruminant Feeding.* pp. 3-18. Elsevier Applied Sci.. N. Y. U.S.A.
- Ellis, W. C., M. J. Wylie and J. H. Matis. 1988. Dietary- digestive interactions determining the feeding value of forage and roughages. *In: E. R. Orskov (Ed.). World Animal Science.* pp. 177.
- Eraso, F. and R. D. Hartley. 1990. Monomeric and dimeric phenolic constituents of plant cell walls-possible factor influencing wall biodegradability. *J. Sci. Food Agric.* 51:163.
- Fernández, S., E. Riequelme y S. González. 1981. Utilización del rastrojo de maíz. Efectos del procesamiento físico y nivel de alimentación. Memorias ALPA, VIII Reunión. Colegio de Postgraduados. Montecillos, México.
- Flores, D. J. A. 1990. Composición relativa y digestibilidad *in vitro* de partes de la planta en rastrojo de líneas de maíz de diferente arquitectura. Tesis

profesional. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 80 p.

- Fonty, G. and K. N. Joblin. 1991. Rumen anaerobic fungi: their role and interactions with other rumen microorganisms in relation to fiber digestion. In: T. Tsuda, Y. Sasaki y R. Kawashima (Eds.). *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. pp. 655-680. Academic Press, Inc.
- Forsberg, C. W., T. J. Bevendye and A. H. Hellstrom. 1981. Cellulase and xylanase release from *Bacteroides succinogenes* and its importance in the rumen environment. *Appl. Environ. Microbiol.*, 42:886.
- García, M. E. 1981. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen para Adaptarlo a la República Mexicana. 3a. edición. Instituto de cartografía. México. D. F.
- García, R. F. y O. F. Estrada. 1991. Composición relativa y valor nutritivo del rastrojo de maíz de riego o temporal cosechado en varias fechas. Tesis profesional. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 74 p.
- Gabrielsen, B. C., K. P. Vogel, B. E. Anderson, and J. K. Ward. 1990. Alkali-labile cell-wall phenolics and forage quality in switchgrasses selected for differing digestibility. *Crop Sci.* 30: 1313.
- González, M. J. y M. J. González. 1990. Consumo y digestibilidad de dietas con diferentes proporciones de sorgo y rastrojo de maíz en borregos de pelo. Tesis Profesional. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 83 p.
- Goto, M., J. Matsuoka, T. Sato. H. Ehara, O. Morita. 1994. Brown midrib mutant maize with reduced levels of phenolic acids ether-linked to the cell walls. *Animal Feed Sci. and Technology.* 48:27.
- Gross, G. G. 1981. Phenolics Acids In: E.E. Conn. (Ed.). *The biochemistry of plants. A comprehensive treatise. Secondary plant products*, Vol. 7. pp. 301-305. ACADEMIC Press New York.
- Greve, L. C., J. M. Labavitch and R. E. Hungate. 1984. α -L-arabinofuranosidase from *Ruminococcus albus* 8: Purification and possible role in hydrolysis of alfalfa cell wall. *Appl. Environ. Microbiol.* 47:1135.

- Harris, L. E. 1970. Métodos para el Análisis Químico y la Evaluación Biológica de Alimentos para Animales. Universidad de Florida. Gainesville, Florida. 5301 p.
- Harrison, G. A. , R. W. Hemken, K. A. Dawson, R. J. Harrison, and K. Barker. 1981. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating dairy cows on ruminal function and microbial populations. J. Dairy Sci. 71:2967.
- Hartley, R. D. 1972. *p*-Coumaric and ferulic acid components of cell walls of ryegrass and their relationships with lignin and digestibility. J. Sci. Feed Agric. 23:1347.
- Hartley, R. D. and E. C. Jones. 1977. Phenolic components and degradability of cell walls of grass and legume species. Phytochemistry. 16:1531.
- Hernández, H. J. 1993. Efecto de la suplementación nitrogenada y energética en la digestibilidad *in vivo* en dietas a base de rastrojo de maíz. Tesis Profesional. Departamento de zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 56 p.
- Higuchi, T. 1990. Lignin biochemistry: biosynthesis and biodegradation. Wood. Sci. Technol. 24:23-63.
- Huerta, B. M. 1988. Avances y aspectos prioritarios de la investigación en nutrición ovina en México. En: 1er. Congreso Nacional de Producción Ovina. Asociación Mexicana de Técnicos Especialistas en Ovinos. pp. 2-14.
- Huerta, B.M. 1995. Comportamiento de ovinos alimentados con subproductos lignocelulósicos. Curso, Tópicos Actuales Sobre Nutrición y Alimentación de Ovinos en Engorda. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 32-53.
- Hungate, R.E. y R.J. Stack. 1982. Phenylpropanoic acid: growth factor for *Ruminococcus albus*. Appl. Environ. Microbiol. 44:79.
- Ibrahim, R. K. 1993. Biosynthesis and biodegradation of polyphenols of flavonoids. In: INRA. Polyphenolic phenomena. pp. 81-98. Editions INRA.
- Ibrahim, R. and D. Barron. 1989. Phenylpropanoids. In: J.B. Harbone. (Ed.). Methods in plant biochemistry vol. 1. pp. 17-112. ACADEMIC Press. San Diego. USA.

- Jiménez, M. A. 1989. La Producción de Forrajes en México. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 100 p.
- Jung, H. G. 1985. Inhibition of structural carbohydrate fermentation by forage phenolics. *J. Sci. Food Agric.* 36:74.
- Jung, H. G. 1988. Inhibitory potential of phenolic-carbohydrate complexes released during ruminal fermentation. *J. Agric. Food Chem.* 36:782.
- Jung, H. G. and M. D. Casler. 1991. Relationship of lignin and esterified phenolics to fermentation of smooth bromegrass fiber. *Animal Feed Sci. And Technology.* 32:63.
- Jung, H. G., and G. C. Fahey. 1983. Interactions among phenolic monomers and *In Vitro* Fermentation *J. Dairy. Sci.* 66: 1255.
- Jung, H. G. and K. P. Vogel. 1986. Influence of lignin on digestibility of forage cell wall material. *J. Dairy Sci.* 71:1526.
- Jung, H. G., G. C. Fahey and E. Garst. 1983a. Simple phenolic monomers of forages and effects of *in vitro* fermentation on cell wall phenolics. *J. Anim. Sci.* 57:1294.
- Jung, H. G., G.C. Fahey and N. R. Merchen. 1983b. Effects of ruminant digestion and metabolism on phenolic monomers of forages. *British J. of Nutrition.* 50:637.
- Jung, H. G. and M. S. Allen. 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *J. Anim. Sci.* 73:2774.
- Jung, H. G. and T Sahl. 1986. Depression of cellulose digestion by esterified cinnamic acids. *J. Sci. Food Agric.* 37:659.
- Jung, H. J. G., J. Ralph y R. D. Hatfield. 1991. Degradability of phenolic acid-hemicellulose esters: a model system. *J. Sci. Food Agric.* 56:469.
- Jung, H. G., R. R. Smith, C. S. Andes. 1994. Cell wall composition and degradability of stem tissues from lucerne divergently selected for lignin *in vitro* dry-matter disappearance. *Grass and Forage Sci.* 49:295.
- Jung, H. G., F. R. Valdez, R. D. Hatfield, and R. A. Blanchette. 1992. Cell wall composition and degradability of forage stems following chemical and biological delignification. *J. Sci. Food Agric.* 58:347

- Karunanandaa, K. and G. A. Varga. 1996. Colonization of crop residues by white-rot fungi: cell wall monosaccharides, phenolics acids, ruminal fermentation characteristics and digestibility of cell wall fiber components in vitro. *Animal Feed Sci. and Technology*. 63:273.
- Lara, S. M. A. 1978. Evaluación cualitativa de gallinaza y urea como suplementos proteicos en la alimentación de rumiantes. Tesis profesional. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 59 p.
- Lowry, J. B, E. A. Sumper, C. S. Mcbweeney, A. C. Schlink and B. Bowden. 1993. Phenolic acids. in the fiber of some tropical grasses, effect on feed quality, and their metabolism by sheep. *Australian J. of Agricultural Research*. 44: 1123.
- McDermid, K., C. R. Mackenzie and Forsberg, C. W. 1990. Esterase activities of *Fibrobacter succinógenes* subsp. *succinogenes*. 585. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:127.
- Martin, A. K. 1982. The origin of urinary aromatic compounds excreted by ruminants. *Br. J. Nutr.* 47:139.
- Marvin, H. J. P., C. F. Krechting, E. N. Van Loo, C. H. A. Snijders, A. Lommen and O. Dolstra. 1996. Relationship between phenolic acids formed during rumen degradation of maize samples and in vitro digestibility. *J. Sci. Food Agric.* 71:111.
- MelleMBERGER, R. W., L. D. Satter, M. A. Millet and A. J. Baker. 1970. An In Vitro technique for estimating digestibility of treated and untreated wood. *J. Anim. Sci.* 30:1005.
- Mertens, D. R. 1979. Effects of buffers upon fiber digestion. In: W. H. Hale y P. Meinhardt (Ed.). *Regulation of Acid-Base Balance*. pp. 65-76. Church y Dwight Company, Inc. Piscataway, N. J.
- Mountfort, D. O. and R. A. Asher. 1985. Production and regulation of cellulase by two strains of the rumen anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 49:1314.
- Monties, B. 1989. Lignins. In: J. B. Harbone (Ed.) *Methods in plant bichemistry*. pp. 113-154. ACADEMIC Press. San Diego. USA.
- Morris, E. J. and O. J. Cole. 1987. Relationship between cellulolytic activity and adhesion to cellulose in *Ruminococcus albus*. *J. Gen. Microbiol.* 133:1023.

- Murray, K. R., K. D. Granner, A. P. Mayes y W. V. Rodwall. 1988. Bioquímica de Harper. Editorial Moderno. Traducido por Carsolio P. MR. 11ª edición. México. p. 713.
- Navarrete, M., J. L. Ruelas y S. Meza. 1993. Evaluación del nivel de melaza y proteína sobre el consumo y digestibilidad de dietas a base de rastrojo de maíz en ovinos. Memorias del VI Congreso Nacional de Producción Ovina, Cd. Valles, San Luis Potosí. pp. 85.
- NRC. 1976. Urea and other Nonprotein Nitrogen Compounds in Animal Nutrition. National Academy of Sci.s, Washington, D. C.
- NRC. 1983 Underutilized Resources as Animal Feedstuffs. pp 180-182. National Academic Press. Washington.
- NRC. 1985. Nutrient Requeriments of Sheep. National Academy of Sciences, Washintong, D. C. 99 p.
- Odenyo, A. A., R. I. Mackie, G. C. Fahey, Jr. y B. A. White. 1991. Degradation of wheat straw and alkaline hydrogen peroxide - treated wheat straw by *Ruminococcus albus* 8 and *Ruminococcus flavefaciens* FD-1. J. Anim. Sci. 69: 819.
- Orpin, C. G. and A. J. Letcher. 1983. Effect of absence of ciliate protozoa on rumen fluid volume, flow rate, and bacterial population in sheep. Animal Feed Sci. and Technology. 10:145.
- Ortiz, V. R. G. 1975. Efecto del hidróxido de calcio al 0.1% sobre el valor nutritivo del rastrojo de maíz en ovinos. Tesis profesional. Departamento de Zootecnia. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo , México. 46 p..
- Patton, S, and E. M. Kesler. 1967. Presence and significance of phenyl-substituted fatty acids in bovine rumen contents. J. Dairy Sci.. 50:1505.
- Pearce, P. D:, and T. Bauchop. 1985. Glycosidases of the rumen anaerobic fungus *Neocalimastix frontalis* grown on cellulosic substrates. Appl. Environ. Microbiol. 49:1265.
- Peláez, C. V. 1979. Efecto de la suplementación sobre el valor nutritivo del rastrojo de maíz con borregos en jaulas metabólicas. Tesis profesional. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 32 p.

- Ramalho, R. J. M. C. 1989. Intake measurement. In: M. Chenost and P. Reiniger. Evaluation of straws in ruminant feeding. pp. 22-35. Elsevier Applied Sci., N. Y. U.S.A.
- Reeves III, J. B. 1985. Lignin composition and in vitro digestibility of feeds. J. Anim. Sci. 60:316.
- Romero, D. I. 1993. Rendimiento y contenido mineral de diferentes genotipos de maíz. Tesis Profesional. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 64 p.
- Sánchez D. R. C. 1990. Factores de manejo que afectan el rendimiento y calidad del rastrojo de maíz. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 201 p.
- Sánchez, D. R. C. y T. Q. López. 1993. Rendimiento y calidad del rastrojo en cinco fechas de corte. Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Jalisco, México. (Resumen).
- SAS. 1985. SAS User's guide:statistics. SAS. Inst. Inc. Cary, NC.
- Stack, R. J. y R. E. Hungate. 1984. Effect of 3-phenylpropanoic acid on capsule and cellulases of *Ruminococcus albus*. Appl. Environ. Microbiol. 48:218.
- Stack, R. J., y M. A. Cotta. 1986 Effect of 3-phenylpropanoic acid on growth of and cellulose utilization by cellulolytic ruminal bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 52:209.
- Stack, R. J., R. E. Hungate y W. P., Opsahl 1983. Phenilacetic acid stimulation of cellulose digestion by *Ruminococcus albus* 8. Appl. Environ. Microbiol. 46: 539.
- Steel, R. G. and J. H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics A. Biometrical Approach (2nd, Ed), Me. Graw-Hill, Book Co. New York. 622 p.
- Sumere V. C. F. 1989. Phenols and phenolic acids. In: J. B. Harbone (Ed.). Methods in plant biochemistry. pp. 29-74. Vol. 1. Harbone- Academic Press. San Diego.
- Teather R. M., K. Ohmiya. 1991. Molecular genetics of rumen cellulase systems. In: T. Tsuda, Y. Sasaki y R. Kawashima (Eds.). Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants. pp.701-717. Academic Press, Inc.

- Toledo, V. A. 1987. Consumo y digestibilidad in vivo de una ración con rastrojo de maíz tratado con 0, 4 y 6% de NaOH. Tesis profesional. Colegio Superior Agropecuario del estado de Guerrero. 107 p.
- Uribe, G. G. 1988. Suplementación mineral de corderos en crecimiento alimentados a base de rastrojo de maíz. Tesis profesional. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 56 p.
- Ushida, K., J. P. Jouany and D. Demeyer. 1991. Effects of presence or absence of rumen protozoa on the efficiency of utilization of concentrate and fibrous feeds. *In*: T. Tsuda, Y. Sasaki y R. Kawashima (Eds.). *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. pp.625-654. Academic Press, Inc.
- Van Nevel, C. J. and D. I. Demeyer. 1988. Manipulation of rumen fermentation. *In*: P. N. Hobson (Ed). *The Rumen Microbial Ecosystem*. pp. 387-392. Elsevier Applied Sci., Londres.
- Van Soest, P. J. 1963. Use of detergents in analysis of fibrous feeds. *J. of the A.O.A.C.* 46:829.
- Van Soest, P. J. 1967. Developement of a comprensive system of feed analusis and its application to forages. *J. Anim. Sci.* 26:119.
- Van Soest, P. J. and R. H. Wine. 1967. Use of detergents in analysis of fibrous feeds. Determination of plant

