

Digestibilidad in situ de dietas con harina de nopal deshidratado conteniendo un preparado de enzimas fibrolíticas exógenas

Marco Medina Romo⁽¹⁾, Gustavo Tirado Estrada⁽¹⁾, Ignacio Mejía Haro⁽¹⁾, Isaac Camarillo Solís⁽¹⁾
y Carlos Cruz-Vázquez⁽¹⁾

⁽¹⁾Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes, AP 74-2, Admón., Postal N° 2, 20040, Aguascalientes, Aguascalientes, México.
E-mail: alcb_2001@yahoo.com.mx, ignacio_mejiaharo@yahoo.com.mx, bcamarillo@prodigy.net.mx, cruva18@yahoo.com.mx

Resumen – Se evaluó el efecto de un preparado de enzimas fibrolíticas exógenas (celulasas y xilanasas) en la degradabilidad in situ de la materia seca (DisMS), fibra detergente neutro (DFDNr) y fibra detergente ácido residual (DFDAr), en dietas altas o bajas en harina de nopal deshidratado. Se aplicaron concentraciones de 0, 1, 2 y 3 g de enzima por kilogramo de materia seca al inicio y 24 horas antes de la degradación in situ. Se determinó la concentración de ácidos grasos volátiles totales y de nitrógeno amoniacal a las 0, 3, 6, 9, 12 y 24 horas después de aplicarse la enzima. No se observaron efectos en DisMS, DFDNr y DFDAr; la aplicación al inicio de la degradación in situ mostró valores más altos que a 24 horas para DisMS y DFDNr, pero fue menor para DFDAr. No se observaron diferencias en las interacciones entre niveles de enzima, tipo de dieta y tiempo de pretratamiento. La aplicación de 1 y 3 g de enzima, en la dieta con bajo contenido de harina de nopal, tuvo efectos en el incremento de los ácidos grasos volátiles totales; para el nitrógeno amoniacal, los mejores resultados ocurrieron con 0 y 1 g de enzima.

Términos para indexación: *Opuntia ficus-indica*, bovinos, celulasas, xilanasas, ácidos grasos volátiles, nitrógeno amoniacal.

In situ digestibility in dehydrated ground prickly pear diets containing a fybrolitic enzymes product

Abstract – It was evaluated the effect of a fybrolitic enzyme product (cellulases and xylanases) on in situ digestibility of dry matter (DisMS), residual neutral detergent fiber (DFDNr) and acid detergent fiber (DFDAr), in dehydrated ground prickly pear diets with a low or high level. Enzyme concentrations of 0, 1, 2, and 3 g kg⁻¹ of dry matter applied at the beginning (0 hour) and 24 hours before starting in situ digestibility were used. Total volatile fatty acids and ammonia nitrogen were determined at: 0, 3, 6, 9, 12, and 24 hours after the enzyme application. There were no effects on DisMS, DFDNr, and DFDAr. Initial application of enzyme concentrations (0 hour) was higher than 24 hours for DisMS and DFDNr but lower for DFDAr. No differences were observed in interactions among enzyme level, diet and application time. Application of 1 and 3 g of the enzyme to the diet with the low level of prickly pear forage had effects on the increasing of volatile fatty acids; for ammonia nitrogen, the best results were obtained using 0 and 1 g of the enzyme.

Index terms: *Opuntia ficus-indica*, cattle, cellulases, xylanases, volatile fatty acids, ammonia nitrogen.

Introducción

La ganadería extensiva, desarrollada en zonas de condiciones áridas y semiáridas en México, se encuentra expuesta a una marcada temporada de estiaje, durante la cual la escasez de pastos es una situación común, lo que provoca mermas en la producción del ganado; a lo largo de dicha época, el nopal forrajero (*Opuntia ficus-indica*) representa un recurso alimenticio importante por su capacidad

de producción de cladodios suculentos, susceptibles de ser aprovechados como forraje para el ganado. Esta planta se caracteriza por presentar alrededor de 5% de proteína, una elevada concentración de carbohidratos solubles y calcio, además de la digestibilidad in situ a 48 horas de 68%, FDN 47% y FDA 16% (Flores & Aguirre, 1992); por ser un recurso forrajero valioso, es necesario proponer alternativas para lograr su aprovechamiento integral.

Las enzimas fibrolíticas exógenas pueden ser empleadas como aditivos en la alimentación de los rumiantes, ya que se ha observado que pueden mejorar la digestibilidad de las dietas, particularmente en la degradabilidad de la materia seca y de las paredes celulares de diferentes forrajes (Beauchemin et al., 1995; Feng et al., 1996; Lewis et al., 1996).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de un preparado de enzimas fibrolíticas exógenas (celulasas y xilanasas), sobre la degradabilidad in situ de la materia seca, fibra detergente neutro y fibra detergente ácido residual, en dietas con harina de nopal deshidratado, así como determinar la concentración de ácidos grasos volátiles y de nitrógeno amoniacal con diferentes niveles de enzimas fibrolíticas y tiempos de muestreo de líquido ruminal.

Material y Métodos

Se cosecharon cladodios maduros de aproximadamente dos años de edad, de una plantación de *Opuntia ficus-indica*, variedad itálica, mantenida en terrenos de temporal del Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes, ubicado en el Municipio de El Llano, Estado de Aguascalientes, México.

El material fresco se pasó por un molino de martillos; el producto de la molienda se extendió de inmediato sobre una plataforma de cemento, que formó una capa uniforme de aproximadamente 5 cm de espesor, y quedó expuesta a los rayos del sol para su secado; el material fue volteado diariamente, por espacio de 5 a 7 días, hasta que estuvo completamente seco y quebradizo. El nopal deshidratado se sometió a molienda, en una criba de 2 cm para obtener harina, en total 300 kg, la cual se almacenó en bolsas de polietileno para su uso posterior. Este material fue sometido a un análisis químico (Association of Official Analytical Chemists, 1995).

El trabajo se desarrolló, en dos fases, entre marzo y agosto de 2004. En la fase I, se evaluó el efecto de un preparado de enzimas fibrolíticas exógenas – celulasas y xilanasas – sobre la degradabilidad in situ de la materia seca (DisMS), de la fibra detergente neutro residual (DFDNR) y de la fibra detergente ácido residual (DFDAR) (Van Soest et al., 1991) de la harina de nopal deshidratado. Para esto, se utilizaron cuatro vacas Holstein con fístula ruminal, las cuales estuvieron sometidas a dos tipos de alimentación en dos periodos.

La dieta alta en harina de nopal tuvo una relación de forraje:concentrado de 73:27, con 20% de rastrojo de

maíz, 20% de heno de alfalfa, 26,7% de un concentrado del 18% de proteína cruda (PC) y 33,3% de harina de nopal; la dieta baja en harina de nopal, tuvo una relación forraje:concentrado de 82:18, con 44,5% de rastrojo de maíz, 27,5 de heno de alfalfa, 18% de un concentrado del 18% de PC y 10% de harina de nopal. Las vacas recibieron su dieta en una sola vez por día (13 kg por día de MS, a las 9h de la mañana), durante 15 días antes del inicio del trabajo experimental como periodo de adaptación.

Se probaron cuatro niveles de enzimas: 0 (testigo), 1, 2 y 3 g de enzima por kilogramo de materia seca, en los periodos de aplicación de 24 horas antes de la exposición in situ y al inicio de la degradación (0 hora). Las muestras de los diferentes tratamientos se mantuvieron por 24 horas en el rumen de las vacas; se utilizaron bolsas de nylon de 10x20 cm y 50 µm de tamaño del poro, y una vez extraídas las muestras del rumen, estas fueron enjuagadas en agua destilada y, posteriormente, secadas en un horno a 60°C. Se utilizaron algunas bolsas vacías y otras con arena, para considerar la contaminación microbiana; las extracciones de bolsas en el rumen se hicieron a la 0 hora.

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 4x2x2 (dosis, tiempo y dieta) y cuatro repeticiones por tratamiento (Steel & Torrie, 1988). Los análisis se realizaron con el PROC ANOVA y prueba de Tukey ($p < 0,05$), del SAS (SAS Institute, 1994).

En la fase II, se determinó la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) y de nitrógeno amoniacal, bajo diferentes niveles de enzimas fibrolíticas y tiempos de muestreo de líquido ruminal. De esta forma, se evaluaron los mismos niveles de enzima que en la fase I de este estudio, y seis tiempos de muestreo (0, 3, 6, 9, 12 y 24 horas) posterior a la aplicación de la enzima al alimento e inicio del consumo por el animal, utilizándose las vacas cuando recibieron la dieta alta en harina de nopal deshidratado.

La concentración de AGV y nitrógeno amoniacal (N-NH₃) se determinó mediante cromatografía de gases (Erwin et al., 1961), empleándose un cromatógrafo de gases de alta resolución Hewlett Packard, con una columna de fase FFAP y 0,32 mm de diámetro interno, 25 µm de espesor en la película interna, detector de ionización de flama (FID) con flujo de 40 mL min⁻¹ para el H y 400 mL min⁻¹ para el aire. El gas de acarreo fue nitrógeno a flujo constante de 1,8 mL min⁻¹, en la proporción de muestra útil a descarte (1:90).

Se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo de tratamientos 4x6 (dosis y tiempos de muestreo) y tres repeticiones por tratamiento (Steel & Torrie, 1988). Los análisis se realizaron con el PROC ANOVA y prueba de Tukey ($p < 0,05$), del paquete estadístico SAS (SAS Institute, 1994).

Resultados y Discusión

Los resultados del análisis químico de la harina de nopal forrajero fueron los siguientes: humedad 10,1%, materia seca 89,8%, cenizas 17,6%, proteína 5%, grasa 1,7%, FDA 20,9%, FDN 35,5%, CNF 41%.

La DisMS y la DFDNr no fueron afectadas por la inclusión de niveles de enzimas fibrolíticas (Cuadro 1). Se observó que los niveles de DisMS son elevados aun en el propio testigo, indicando con ello la posible presencia de un bajo contenido de paredes celulares, o bien de componentes de la pared, fácilmente digestibles, lo cual implica que, en este caso, la aplicación de enzimas fibrolíticas exógenas fue de poco valor.

Beauchemin et al. (2003) mencionan que el efecto principal de las enzimas fibrolíticas es un aumento en la energía digestible, mediante el incremento en la degradabilidad de las paredes celulares, en dietas cuya principal limitante es la energía, pero este efecto se reduce o no se observa, si el nivel de energía en la dieta es adecuado o suficiente para cubrir los requerimientos del animal. Igualmente, en el presente trabajo, se observaron valores altos de la DFDNr y de DFDAr. No obstante, se observa una remoción considerable de fracciones de paredes celulares bajo la digestión neutra y ácida, lo cual supone un potencial adicional de nutrientes que aún podrían ser utilizados, si se mejorara la actividad fibrolítica en el rumen.

Cuadro 1. Degradabilidad in situ de la materia seca (DisMS), tasa de desaparición de las fracciones en detergente neutro (DFDNr) y ácido (DFDAr) en rumen de vacas, en dietas con harina de nopal deshidratado con diferentes dosis de enzimas fibrolíticas exógenas (celulasas y xilanasas)⁽¹⁾.

Enzima (g kg ⁻¹)	DisMS (%)	DFDNr (%)	DFDAr (%)
0	87,18a	90,46a	94,52a
1	86,93a	89,67a	93,72a
2	87,25a	89,56a	92,00a
3	86,75a	90,02a	94,25a
CV (%)	1,25	1,36	0,80

⁽¹⁾Medias con diferentes letras difieren estadísticamente por la prueba de Tukey a 5% de probabilidad.

El análisis de la interacción enzima x tiempo y enzima x dieta, sobre la DisMS, DFDNr y DFDAr no resultó significativo, e indicó, de nuevo, un bajo efecto, no significativo, de la enzima sobre la promoción de un incremento en la digestibilidad y degradación de las fracciones de la paredes celulares de la harina de nopal deshidratado. Asimismo, se encontró que la DisMS en la dieta baja en harina de nopal deshidratado, la cual contenía un porcentaje de fibra mayor que la dieta alta en harina de nopal deshidratado, fue superior ($p < 0,01$) a la obtenida en esta última, y la misma tendencia se observó en la DFDNr y DFDAr (Cuadro 2). Esto se debe, en parte, a que el pH ruminal en la dieta alta en harina de nopal favoreció un medio más ácido, ya que contenía menos fibra efectiva, necesaria para la producción de saliva y, consecuentemente, tuvo un efecto amortiguante, lo que puede afectar parcialmente el crecimiento de la población de las bacterias fibrolíticas y el coeficiente de digestibilidad de la MS y fracciones de fibra; esto sugiere que la aplicación de enzimas fibrolíticas exógenas es más adecuada en dietas altas en fibra, para que se promueva un mayor aprovechamiento de los forrajes.

En la literatura, se menciona que la actividad enzimática y la digestibilidad dependen del tipo y origen de la propia enzima, del sustrato en que actúe (Nsereko et al., 2000; Ramírez Cancino et al., 2005), y del pH, reportándose que la máxima actividad de xilanasas y celulasas se observa a un pH de 6 a 6,5 (Morgavi et al., 2000), aunque pH bajos pueden no afectar su actividad (Rode et al., 1999), y la digestibilidad puede ser reflejo del sinergismo entre las enzimas exógenas y los tipos de microorganismos ruminales presentes (Colombatto et al., 2003; Ramírez Cancino et al., 2005).

Cuadro 2. Degradabilidad in situ de la materia seca (DisMS), degradabilidad de la fibra detergente neutro (DFDNr) y fibra detergente ácido (DFDAr) en rumen de vacas, en dietas con harina de nopal deshidratado, aplicándose dos tiempos de pretratamiento con enzimas fibrolíticas exógenas (celulasas y xilanasas)⁽¹⁾.

Tipo de dieta ⁽²⁾	DisMS (%)	DFDNr (%)	DFDAr (%)
Dieta I	84,64b	88,3b	90,12b
Dieta II	89,42a	91,5a	94,92a
Tiempo de pretratamiento			
Al inicio (0 hora)	87,85a	90,8a	91,46b
24 horas	86,20b	88,9b	93,60a
CV (%)	1,25	1,36	0,79

⁽¹⁾Medias con diferentes letras difieren estadísticamente por la prueba de Tukey a 5% de probabilidad. ⁽²⁾Dieta I: alta en nopal y baja en fibra; Dieta II: baja en nopal y alta en fibra.

En todos los casos, los valores de digestibilidad, cuando se utilizó la dieta baja en harina de nopal deshidratado, resultaron superiores a la dieta con alto contenido de esa harina (Cuadro 2), lo cual se explica por la naturaleza propia de ambas dietas, pues la que es alta en harina de nopal deshidratado resulta menos fibrosa que la dieta baja, y promueve un menor crecimiento de la población bacteriana especializada en la degradación de la fibra; y, así, se confirma de nuevo la baja importancia de aplicarse enzimas fibrolíticas, cuando la cantidad de fibra es baja, o los componentes de esta son de fácil degradación en algún forraje.

Las enzimas fibrolíticas generalmente aumentan la degradación de la pared celular, al liberar compuestos fenólicos que producen una barrera a la degradación bacteriana, observándose este efecto más en la velocidad que en el potencial de degradación del forraje (Wang et al., 2004). Dado que la dieta alta en harina de nopal deshidratado contenía menos fibra que la dieta baja, el grado de obstrucción de esta barrera era menor, por lo que el efecto de degradación de las enzimas exógenas fue menor.

La aplicación del preparado enzimático al inicio (0 hora) resultó superior al de 24 horas de tratamiento enzimático de la harina del nopal antes de la digestión ruminal in situ, para las variables DisMS y DFDNr.

Para la DFDAr, el tiempo 24 horas fue superior al tiempo 0 horas ($p < 0,05$) (Cuadro 2); en estudios realizados con el preparado de enzimas Fibrozyme, se ha observado que la adición de las enzimas a forrajes frescos o deshidratados (expuestos a calor forzado) no mejora la digestibilidad de la materia seca ni la FDN, situación similar se reporta para el ensilaje de alfalfa (Feng et al., 1996).

En el presente estudio, es posible que las condiciones de temperatura y solubilización, en el pre-tratamiento, no hubieran sido las mejores para favorecer una adecuada actividad de la enzima; así, esta actividad no se vería reflejada en un aumento de DisMS y DFDNr; sin embargo, debido a que en la harina de nopal deshidratado el contenido de FDA resulta bajo, la actividad de la enzima se vio reflejada en esta fracción.

Wang et al. (2004) probaron el efecto de enzimas fibrolíticas aplicadas a paja de trigo, con y sin tratamiento con amoníaco, y observaron que las enzimas redujeron la concentración de FDA solo en las muestras tratadas

con amoníaco, sin embargo, no se vio el efecto reflejado en el consumo voluntario en vacas productoras de carne. Estos investigadores observaron que el efecto de las enzimas es más fuerte en las primeras 30 horas, en una digestión in situ, y que a las 80 horas, este efecto se reduce considerablemente.

Las mayores concentraciones de ácidos grasos volátiles totales (AGV) se obtuvieron con los niveles de 1 y 3 g de enzima, entre 3 y 12 horas de muestreo (Cuadro 3). La concentración (mM) de acetato siguió el mismo patrón de comportamiento que los AGV. La concentración de propionato no fue afectada por los niveles de enzimas, mientras que a 6 horas de muestreo se registró el valor más alto, y a 0 y 9 horas se registraron los más bajos. El butirato registró las mayores concentraciones con 1 y 3 g de enzima a 3, 6 y 12 horas. Finalmente, las mayores concentraciones de N-NH₃ ocurrieron a 0 y 1 g de enzimas, a las 3 y 24 horas de muestreo.

Otros autores han encontrado que la adición de enzimas fibrolíticas, en diferentes forrajes, tiene un efecto similar al observado en el presente estudio, al elevarse la concentración total de AGV, sin embargo, la concentración de AGV solo es una medida que indica el balance entre producción y absorción de los mismos (Lewis et al., 1996; Pinos-Rodríguez et al., 2002a); asimismo se ha reportado que la concentración de N-NH₃, en forrajes adicionados con Fibrozyme, se mantiene constante hasta por 24 horas (Pinos-Rodríguez et al., 2002b).

Cuadro 3. Concentraciones promedio de ácidos grasos volátiles (AGV): acetato, propionato y butirato y N-NH₃ en rumen de vacas, en dietas con harina de nopal deshidratado, con diferentes dosis de enzimas fibrolíticas exógenas (celulasas y xilanasas) y tiempos de muestreo⁽¹⁾.

Enzima (g kg ⁻¹)	AGV (mM)	Acetato (mM)	Propionato (mM)	Butirato (mM)	N-NH ₃ (mg 100 mL ⁻¹)
0	56,62b	38,29c	12,02a	6,74c	12,60a
1	75,06a	48,96ab	15,55a	11,09a	12,43a
2	61,21b	41,04bc	12,22a	8,14bc	11,44b
3	77,30a	51,98a	15,48a	9,76ab	10,20c
CV (%)	14,13	20,30	35,71	23,70	2,72
Tiempo (horas)					
0	55,30c	38,68b	10,51b	6,60b	11,83c
3	74,35ab	48,80ab	15,97ab	9,84a	18,38b
6	79,64a	50,80a	17,51a	11,33a	8,13d
9	56,25c	37,75b	11,52b	6,98b	5,33f
12	73,02ab	48,18ab	15,15ab	9,95a	6,92e
24	66,71bc	46,36ab	12,25ab	8,90ab	19,45a
CV (%)	14,3	20,3	35,7	23,7	2,72

⁽¹⁾Medias con diferentes letras difieren estadísticamente por la prueba de Tukey a 5% de probabilidad.

Conclusiones

1. La aplicación del preparado de enzimas fibrolíticas no tiene efecto en la digestibilidad de las dietas evaluadas.
2. La aplicación de 1 g del preparado de enzimas fibrolíticas, en la dieta alta en harina de nopal deshidratado, mostró efecto sobre el incremento de los ácidos grasos volátiles y del nitrógeno amoniacal.

Referencias

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis**. 16th ed. Arlington, VA, 1995. 1v.
- BEAUCHEMIN, K.A.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D.P.; YANG, W.Z. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v.80, p.37-47, 2003.
- BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M.; SEWALT, V.J.H. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. **Canadian Journal of Animal Science**, v.75, p.641-644, 1995.
- COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D.P.; FURTADO, A.F.; BEAUCHEMIN, K.A. Screening of exogenous enzymes for ruminant diets: relationships between biochemical characteristics and in vitro ruminal degradation. **Journal of Animal Science**, v.81, p.2628-2638, 2003.
- ERWIN, E.S.; MARCO, G.J.; EMERY, E.M. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v.44, p.1768-1776, 1961.
- FENG, P.; HUNT, C.W.; PRITCHARD, G.T.; JULIEN, W.E. Effect of enzyme preparations on in situ and in vitro degradation and in vivo digestive characteristics of mature cool-season grass forage in beef steers. **Journal of Animal Science**, v.74, p.1349-1357, 1996.
- FLORES, V.C.A.; AGUIRRE, J.R.R. **El Nopal como forraje**. 1.ed. México: Universidad Autónoma Chapingo, 1992. 60p.
- LEWIS, G.E.; HUNT, C.W.; SANCHEZ, W.K.; TREACHER, R.; PRITCHARD, G.T.; FENG, P. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. **Journal of Animal Science**, v.74, p.3020-3028, 1996.
- MORGAVI, D.P.; BEAUCHEMIN, K.A.; NSEREKO, V.L.; RODE, L.M.; IAWAASA, A.D.; YANG, W.Z.; McALLISTER, T.A.; WANG, Y. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1310-1321, 2000.
- NESEREKO, V.L.; MORGAVI, D.P.; RODE, L.M.; BEAUCHEMIN, K.A.; McALLISTER, T.A. Effects of fungal enzyme preparations on hydrolysis and subsequent degradation of alfalfa hay fiber by mixed rumen microorganism in vitro. **Animal Feed Science Technology**, v.88, p.153-170, 2000.
- PINOS-RODRÍGUEZ, J.M.; GONZÁLEZ, S.S.; MENDOZA, G.D.; BÁRCENA, R.; COBOS, M.A.; HERNÁNDEZ, A.; ORTEGA, M.E. Effects of exogenous fibrolytic enzyme on ruminal fermentation and digestibility of alfalfa and rye-grass hay feed to lambs. **Journal of Animal Science**, v.80, p.3016-3020, 2002a.
- PINOS-RODRÍGUEZ, J.M.; MENDOZA, G.D.; BÁRCENA, G.; COBOS, P. Efecto de enzimas exógenas en la digestibilidad in vitro de la pared celular de heno de alfalfa (*Medicago sativa*) o de Ballico (*Lolium perenne*). **Interciencia**, v.27, p.28-32, 2002b.
- RAMÍREZ CANCINO, L.; ARANDA IBÁÑEZ, E.; MENDOZA MARTÍNEZ, G.D.; LANDOIS PALENCIA, L.; MIRANDA ROMERO, L.A.; CROSBY GALVÁN, M. Caracterización de productos fibrolíticos comerciales utilizados en la alimentación de rumiantes. **Veterinaria México**, v.36, p.1-10, 2005.
- RODE, L.M.; YANG, W.Z.; BEAUCHEMIN, K.A. Fibrolytic enzyme supplements for dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.2121-2126, 1999.
- SAS INSTITUTE (Cary, Estados Unidos). **SAS/STAT user's guide**. Version 6. Cary, NC, USA, 1994. 2v.
- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. **Bioestadística: principios y procedimientos**. 2.ed. México: McGraw-Hill, 1988. 622p.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3586-3597, 1991.
- WANG, Y.; SPRATLING, B.M.; ZOBELL, D.R.; WIEDMEIER, R.D.; McALLISTER, T.A. Effect of alkali pretreatment of wheat straw on the efficacy of exogenous fibrolytic enzymes. **Journal of Animal Science**, v.82, p.198-208, 2004.

Recibido el 11 de marzo de 2005 y aceptado el 24 de marzo de 2006