

Efecto de adición de un suplemento líquido portador de bacterias acidolácticas a dietas de alfalfa-concentrado y rastrojo de maíz-concentrado en ovinos

J. L. Franco¹, M. A. Galina², P. C. Delgadillo³, F. Perez-Gil³

¹Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM. Maestría en Ciencias de la Producción Animal.

²Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM. Profesor Investigador Tipo C.

³Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán".

Departamento de Nutrición Animal. México.

Recibido Enero 3, 2008. Aceptado Octubre 12, 2008.

RESUMEN. Con el objetivo de determinar el efecto de un suplemento líquido de bacterias acidolácticas (SULIBAL) sobre la fermentación ruminal y utilización de dietas mixtas de alfalfa o rastrojo de maíz y concentrado comercial, se alimentaron cuatro ovinos machos adultos (52 ± 10 kg), dotados con cánulas ruminales, con los tratamientos (%): T1 (alfalfa 55 y concentrado 45), T2 (alfalfa 50, concentrado 40 y SULIBAL 10), T3 (rastrojo 55 y concentrado 45), T4 (rastrojo 50, concentrado 40 y SULIBAL 10). Los T1 y T3 sirvieron de testigo a T2 y T4, respectivamente. El SULIBAL se elaboró con diversos ingredientes, destacándose la presencia de suero fresco de quesería y yogurt como fuentes de BAL. Se caracterizó la fermentación ruminal a través del pH, niveles de NH_3 y AGV 's y cinética de desaparición *in situ* de la MS; también se determinó el balance de N en el cuerpo. Las medias de consumo de MS (g/d), de T1 a T4 en orden, fueron: 1148.8, 1291, 887 y 1023, con efecto positivo ($P < 0.05$) de alfalfa y, entre T3 y T4, de la adición de SULIBAL. El pH ruminal bajó desde valores iniciales cercanos a 7.0 a valores de 5.7 a 5.8 a las 8 h después de comenzar la ingestión para luego aumentar levemente hasta las 12 h, sin mucho efecto de tratamiento. Desde niveles iniciales de 43 a 51 mg NH_3/L , la concentración de amoníaco en el líquido ruminal se incrementó más rápidamente en T2 y T4 hasta las 2h, alcanzó valores máximos (93 a 112 mg/L) a las 4 h y luego decreció progresivamente hasta alcanzar a las 12 h, aproximadamente al nivel inicial en T1 y T2 y valores menores de 30 mg/L en T3 y T4. La concentración ruminal de AGV 's totales acusó efecto mayormente del alfalfa sobre el rastrojo; la proporción molar de ácido propiónico respondió positivamente al SULIBAL cuando éste se combinó con rastrojo. La degradación *in situ* de MS a las 96 h de incubación superó a los 60% en todos los tratamientos y la digestibilidad verdadera estimada favoreció la adición de SULIBAL (T2, 83.68; T4, 76.78) sobre el testigo (T1, 71.95; T3, 73.01). La digestibilidad y retención de N en el cuerpo fueron marcadamente mayores en T1 y T2 (alfalfa) que T3 y T4 (rastrojo), mientras entre estos últimos la presencia de SULIBAL logró mejoras. Se concluye que la adición del suplemento líquido a estas dietas produjo beneficios, al tender a mejorar el consumo *in vivo* y la digestibilidad estimada *in situ* y, posiblemente, promover la síntesis de proteína microbiana en el rumen (a juzgar por la evidencia indirecta aportada por la formación y desaparición de NH_3).

Palabras clave: Alfalfa, Bacterias acidolácticas, Fermentación ruminal, Ovinos, Rastrojo de maíz, Suplemento líquido

Effects of addition of a liquid supplement supplying lactic acid bacteria to diets of alfalfa-concentrate and corn stover-concentrate in sheep

ABSTRACT. To determine the effects of a liquid supplement containing lactic acid bacteria (SULIBAL) on rumen fermentation and utilization of mixed diets of alfalfa or corn stover and commercial concentrates, four adult male sheep (52 ± 10 kg), fitted with rumen canulae, were fed four treatments composed of (%): T1 (alfalfa 55 and concentrate 45), T2 (alfalfa 50, concentrate 40 and SULIBAL 10), T3 (stover 55 and concentrate 45), T4 (stover 50, concentrate 40 and SULIBAL 10), with T1 and T3 serving as control to T2 and T4, respectively. The

¹ Autor para la correspondencia, e-mail: jfranconiato@yahoo.com.mx

liquid supplement was formulated with diverse ingredients, most importantly fresh whey from cheese making and yogurt as sources of lactic acid bacteria. Rumen fermentation was characterized by measurement of pH, levels of NH₃ and VFA, and kinetics of *in situ* DM disappearance; N balance in the body was also determined. Mean DM consumption (g/d) in T1 thru T4 was: 1148, 1291, 887, and 1023, with positive effects ($P < 0.05$) of alfalfa and between T3 and T4, of SULIBAL. Rumen pH declined from initial values near 7.0 to levels of 5.7 to 5.8 at 8 h after ingestion began, then increased slowly up to 12h, without much effect of treatments. From initial levels of 43 to 51 mg NH₃/L, ammonia concentration in rumen liquid climbed most rapidly postprandially in T2 and T4, reached maxima (93 to 112 mg/L) at 4 h and thereafter decreased progressively until, at 12 h, reaching approximately initial levels in T1 and T2 and values below 30 mg/L in T2 and T4. Rumen concentration of total VFA showed principally an advantage of alfalfa over stover, while the molar percentage of propionic acid responded positively to the liquid supplement when this was combined with stover (T4). *In situ* DM degradation at 96 h of incubation surpassed 60% in all treatments, while estimated true DM digestibility favored the addition of SULIBAL (T2, 83.68; T4, 76.78=) over the controls (T1, 71.95; T3, 73.01). Nitrogen digestibility and retention were markedly higher in T1 and T2 (alfalfa) than T3 and T4 (stover), while between the latter two the presence of SULIBAL gave some improvement. It is concluded that addition of the liquid supplement to these diets proved to be beneficial, by tending to improve *in vivo* consumption and *in situ* estimated digestibility and possibly promoting the synthesis of microbial protein in the rumen (judging from the indirect evidence of formation and disappearance of NH₃).

Key words: Alfalfa, Corn stover, Lactic acid bacteria, Liquid supplement, Rumen fermentation, Sheep

Introducción

La ganadería, en específico la producción de carne, es la actividad económica más diseminada en el medio rural, se realiza en todas las regiones ecológicas del país, aún en condiciones adversas que no permiten la práctica de otras actividades productivas. La ovinocultura se ha desarrollado hasta ubicarse actualmente como una actividad económica importante en la participación del abasto de carne. Esto ha requerido una evolución tecnológica en las actividades ganaderas, algunas con una clara tendencia a la estabulación y el manejo de dietas basadas en forrajes de alta calidad y elevados contenido de granos forrajeros, y otras que utilizan pastos y forrajes toscos, subproductos agrícolas, principalmente pajas y rastrojos para la alimentación del ganado (SAGARPA, 2005).

La expresión productiva de estos recursos forrajeros requiere del establecimiento de un ecosistema ruminal que maximice la digestibilidad de la fibra complementando los elementos que limitan la capacidad fermentativa microbiana (Leng *et al.*, 1991).

Las limitaciones nutricionales de estos materiales se resuelven con una adecuada suplementación, con nutrientes críticos de baja degradabilidad en el rumen, principalmente proteína y un mejoramiento de la eficiencia en la fermentación ruminal, mediante el aporte de nutrientes no microbianos en la dieta como nitrógeno no proteico (NNP) y minerales que permiten un mejor micro ambiente para el desarrollo de las bacterias fibrolíticas (Leng, 1990).

Una de las estrategias de alimentación más apropiada de producción pecuaria para los países de escasos recursos es modificar los sistemas existentes, aprovechando los conocimientos nuevos para asegurar la utilización eficiente de los recursos alimenticios disponibles, particularmente los forrajes fibrosos (Preston y Leng, 1989).

Uno de los aportes importantes a la actividad pecuaria ha sido la utilización de la melaza (subproducto de la industria azucarera) como fuente de energía de los microorganismos anaerobios ruminales, que aportan carbohidratos solubles, sustituyendo a los cereales en la alimentación animal (Elías, 1983).

Actualmente se cuenta con múltiples innovaciones técnicas en el área de producción animal, en lo referente al establecimiento, manejo, y utilización de especies forrajeras, particularmente en pastoreo, además del aprovechamiento y tratamiento de esquilmos agrícolas e industriales, todo ello enfocado a incrementar la productividad de las empresas pecuarias, con la utilización de los forrajes abundante en fibra de menor costo (Galina *et al.*, 2004a).

El reto para el sector ganadero es hacer rentables los sistemas de producción con escasa tecnología utilizando nuevos productos biológicos biodegradables, con efectos semejantes a los antiguos aditivos y sin riesgo para la salud del consumidor o para el medio ambiente (Caja *et al.*, 2003).

El objetivo del presente estudio es incrementar la eficiencia de los forrajes fibrosos en la producción ovina, mediante el uso de un suplemento líquido de bacterias acidolácticas (SULIBAL). Se determinará la

cinética de la fermentación ruminal, a través del pH, la producción de amoníaco (NH_3) y ácidos grasos volátiles (AGV's), además la tasa de degradabilidad *in situ* de la materia seca (MS).

Material y Métodos

El presente estudio se realizó en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), México Distrito Federal. Se utilizaron cuatro ovinos machos adultos con un peso vivo promedio de 52.4 kg, dotados con cánulas ruminales, alojados en jaulas metabólicas individuales, alimentados con cuatro dietas experimentales, T1 y T2, a base de alfalfa, T3 y T4 rastrojo de maíz, los T2 y T4 con y los T1 y T3 sin un 10% de SULIBAL, todos con 40 ó 45% de concentrado. El diseño experimental fue de cuadrado latino 4 x 4. Cada uno de los cuatro períodos tuvo una duración de 12 d, de los cuales siete fueron de adaptación a las dietas y los cinco restantes de muestreo. En la elaboración del SULIBAL se emplearon diversos productos y subproductos agroindustriales: melaza (10%), pasta de soya (2.5%), maíz molido (2.5%), pollinaza (2.5%), urea (0.5%), sulfato de amonio (0.5%), ortofosfato (0.2%) y sales minerales (0.5%), los cuales se pesaron y se mezclaron con 79.05% de agua. Como fuente de BAL se utilizó suero fresco de quesería (1%) y yogurt (0.75%) conteniendo aproximadamente 4×10^7 ufc de bacterias lácticas, compuesto (ufc) por 4×10^6 de *Lactobacillus plantarum*, 10^7 de *L. delbrueckii*, 8×10^6 de *L. helveticus*, 10^7 de *Lactococcus lactis*, 10^7 de *Leuconostoc mesenteroides* y 5×10^4 de *Bifidus spp.* Se cuantificó el consumo voluntario diariamente mediante pesaje del alimento ofertado y el

rechazado. Para analizar la cinética de fermentación ruminal, el quinto día del periodo de muestreo se determinó el pH, la concentración de NH_3 y la presencia de AGV's en el líquido ruminal, tomando como referencia la hora cero (08:00) previo a la ingestión y siguiendo la valoración en intervalos de 2 h hasta completar 12 h de observación.

Para determinar la digestibilidad *in situ* se utilizó la técnica de bolsa de nylon (Ørskov *et al.*, 1980). Se colocó la muestra de 3 g, con tamaño de partícula de 3 mm; dentro de una bolsa sellada en el rumen donde se dejó por lapsos de 9, 12, 24, 36, 48, 72 y 96 h. Al final del periodo de incubación, se retiró la muestra del rumen, se lavó en periodos de 10 min con agitación a 150 rpm y luego se secó en estufa de desecación a 60°C durante 48 h. Se determinó el contenido de MS del material residual (AOAC, 2005). Las bolsas correspondientes a la hora cero se sometieron únicamente al lavado para determinar la cantidad de material soluble en las muestras. Los valores obtenidos se analizaron mediante el paquete computadorizado "Neway Excel", desarrollado por Chen (1995). Se sometieron los resultados a un análisis de varianza para un diseño de cuadrado latino 4 x 4 empleando el procedimiento PROCGLM (SAS, 2005). Se aplicó la prueba de Tukey, con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$, a la diferencia entre medias).

Resultados y Discusión

El tratamiento T2 tuvo la mayor aceptación animal, con una media de consumo en base seca al aire (g/d) de 1520, seguido del T1 (1262.5), el T4 (1198) y, por último, el T3 (970). Las cifras correspondientes expresadas como MS fueron 1291, 1148, 1023 y 887 g/d (Tabla 1). Los consumos respectivos de materia orgánica y de nitrógeno siguieron el mismo patrón, con diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 1). En estos tres criterios de consumo se vieron favorecidos los tratamientos que incluyeron alfalfa y que contaron con SULIBAL.

Al muestreo de contenido ruminal a la 2 h posterior al inicio de la ingestión, la adición de BAL

resultó en un pH más alto en T4 (6.3) que en su testigo T3 (5.8) ambos a base de rastrojo; y en menor grado más alto en T2 (6.5) que en T1 (6.2) en presencia de alfalfa (Figura 1). A las 4 h los tratamientos T1, T2 y T4 habían bajado sus pH a un nivel casi común cercano a 6.0, mientras el T3 no alteró su valor anterior de 5.8. Desde las 6 y hasta las 12 h hubo poca variación entre los cuatro tratamientos cuyos valores oscilaban alrededor de pH 5.9 (Figura 1). Galina *et al.* (2004b) emplearon tratamientos similares al T1 del presente estudio (alfalfa y concentrado) y observaron pH ruminal de 5.7 y 5.8 a las 4 y 6 h después de la ingestión,

Tabla 1. Consumo de materia seca, materia orgánica y de nitrógeno, en ovinos alimentados con los tratamientos experimentales.

	T1 (alfalfa, concentrado)	T2 (alfalfa, concentrado, SULIBAL)	T3 (rastrajo de maíz, concentrado)	T4 (rastrajo de maíz, concentrado, SULIBAL)
Consumo de MS (g/día)	1,147.6 ^a ± 88	1,291.2 ^a ± 59	887.1 ^c ± 142	1,023.3 ^b ± 73
Consumo MO (g/día)	1,038 ^a ± 79	1,177 ^a ± 54	799 ^c ± 128	929.2 ^b ± 66
Consumo de N (g/día)	28.7 ^b ± 2.2	34.4 ^a ± 1.6	11.9 ^c ± 1.9	16.4 ^c ± 1.2

a. literales diferentes indican que diferencia significativa ($P > 0.05$) entre columnas

coincidiendo con el valor de T1 a las 6 h (5.8). El pH más bajo (5.69) se observa con el T1 a las 8 h. A partir de dicho momento el pH aumentó gradualmente en todos los tratamientos. Esto indica que, a pesar que se favoreció la acumulación de ácido láctico en el medio ambiente ruminal, también se promovieron las bacterias, tales como *Megasphaera elsdenii*, que metabolizan el lactato hacia la formación de acetato y propionato (Kung y Hession, 1995).

La producción de amoníaco ruminal (mg/L) fue mayor en los tratamientos basados en alfalfa (T1, (73.6, y T2, 74.6) difiriendo éstos ($P < 0.05$) de los basados en rastrojo (T3, 62.7, y T4, 61.9; Tabla 2). Al muestreo a las 2 h se observó un incremento significativo en T2 y T4 con adición de SULIBAL

sobre sus respectivos testigos (Figura 2). Eventualmente, a las 10 y 12 h los valores de T3 y T4 cayeron por debajo de los de T1 y T2 que se mantuvieron en niveles cercanos a 50 mg/L de NH_3 . Esta disminución sugiere una utilización metabólica del N, probablemente por la formación de proteína bacteriana (Mwenya *et al.*, 2004).

La concentración ruminal de AGV se vio afectada por la composición de la dieta, principalmente el forraje, encontrándose en bajos niveles en T3 y T4 a base de rastrojo (Tabla 2). Entre las proporciones molares de los AGV se observó un incremento de ácido propiónico en el T4 (20.4 %), haciéndolo equiparable con las dietas a base de alfalfa. El ácido acético no mostró variaciones

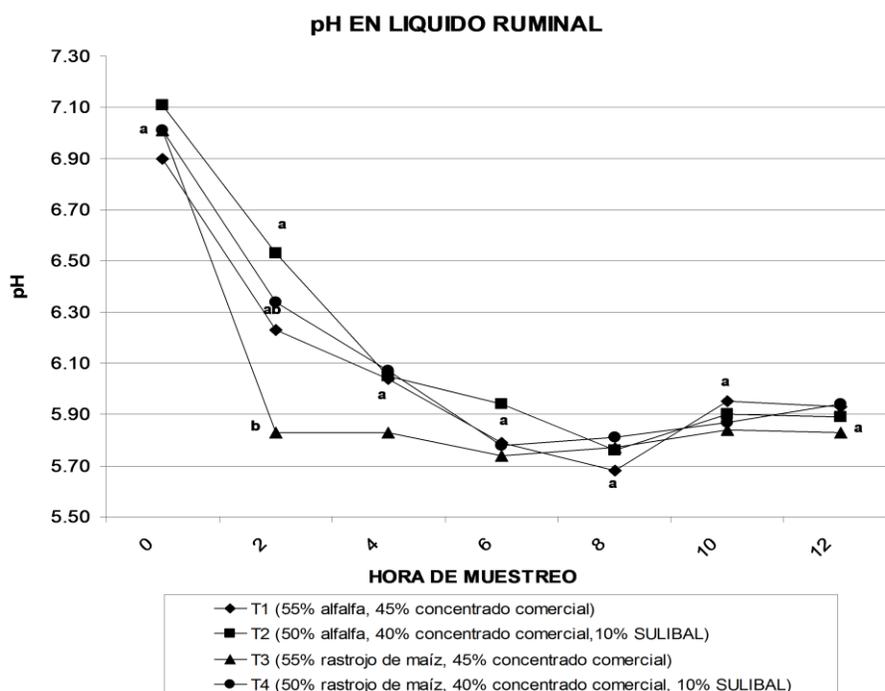


Figura 1. Efecto del SULIBAL en la cinética del pH ruminal

Tabla 2. Efecto de la siembra de bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus bulgaricus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenterioides*, y *Bifidus spp.*) a través del suplemento líquido en el rumen de ovinos alimentados a base de alfalfa o rastrojo de maíz y concentrado comercial

	Tratamientos				DS
	T1	T2	T3	T4	
Total de AGV'S (mmol)	25.85 ^a	24.57 ^a	18.12 ^b	16.65 ^b	4.22
Proporción molar (%)					
Acético	53.5 ^a	56.0 ^a	58.0 ^a	57.3 ^a	1.15
Propiónico	21.8 ^a	21.5 ^a	18.3 ^a	20.4 ^a	1.01
Butírico	16.1 ^a	15.4 ^b	17.4 ^a	15.6 ^a	1.15
Isobutírico	3.15 ^a	2.4 ^a	1.6 ^a	2.1 ^a	0.57
Isovalérico	2.5 ^a	2.0 ^a	2.0 ^a	2.2 ^a	0.25
Degradabilidad verdadera MS (96 h) (%)	71.9 ^b	83.7 ^a	73.0 ^b	76.8 ^a	2.89

importantes entre tratamientos y el butírico fue menor en T2 y T4. La presencia de AGV's de cadena ramificada se vio favorecida con la adición del suplemento líquido en combinación con rastrojo (T3 vs. T4), pero no así con alfalfa (T1 vs. T2). Kamra *et al.* (2005) mencionan que la adición de *Saccharomyces cerevisiae* a la dieta no afecta la producción de AGV's pero disminuye la presencia de NH₃ y ácido láctico con un incremento del pH. Corona *et al.* (1999) observaron un incremento de butirato y una baja en el acetato, con la adición de *S. cerevisiae*.

La desaparición de la MS durante la incubación *in situ* no mostró diferencias significativas entre tratamientos a las 9 y 12 h, pero a las 24 h hubo significancia, con una mayor degradabilidad en los T2 y T4 que incluyeron el SULIBAL (37 y 33 %, respectivamente; Figura 3). A las 48 h de incubación ya había desaparecido el 50% de la MS en todos los tratamientos y aún se observaba la diferencia entre los tratamientos con y sin adición de SULIBAL, siendo los valores mayores de T2 (55%) y T4 (54%). Después de 96 h de incubación no hubo diferencias

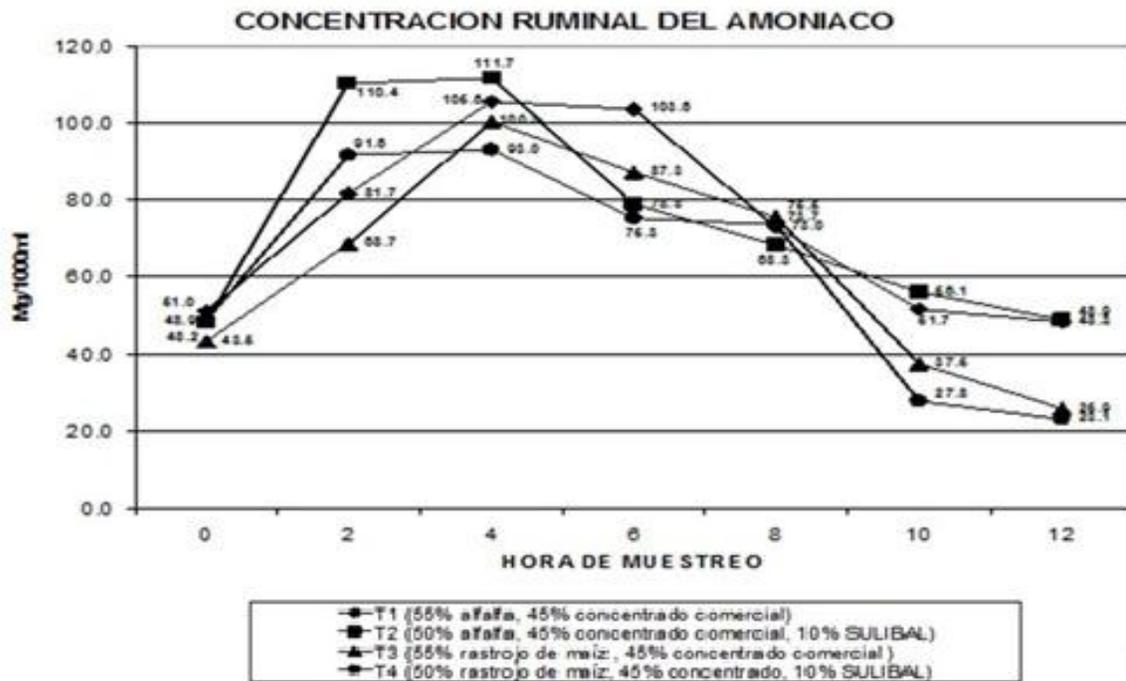


Figura 2. Efecto del SULIBAL sobre la producción de NH₃ en el rumen

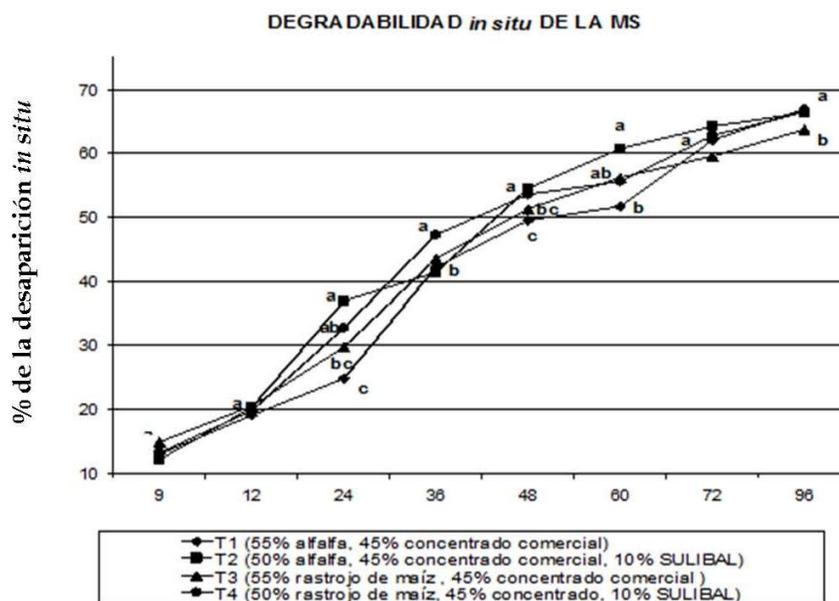


Figura 3. Efecto del SULIBAL sobre la degradabilidad *in situ* de la MS, en ovinos alimentados con los tratamientos experimentales.

significativas entre T1, T2 y T4 (67%), pero persistió la inferioridad ($P < 0.05$) de T3 (64%; Figura 3). La degradabilidad verdadera de la MS estimada por el programa Newey Excel reveló un mayor valor de T2 (83.68%), el cual superó ($P < 0.05$) a los tratamientos T1 y T3 sin SULIBAL, pero no así al T4 en que la degradabilidad verdadera de la MS incluyendo rastrojo fue 76.78% (Tabla 2). Corona *et al.* (1999) obtuvieron resultados similares en su estudio realizado con dos productos a base de levadura *S. cerevisiae*, Yea-Sec (57.5%) y Levucell (56.6%) contra 53.2% con el testigo. Newbold *et al.* (1995) usaron un sistema *in vitro* (Rusitec) para determinar el efecto de la adición de cuatro cepas de *S. cerevisiae* de la colección NCYC y un producto comercial (Yea-Sacc) sobre la degradación de la MS en una dieta práctica (mitad heno y mitad ingredientes concentrados), encontrándose aumentos no significativos en MS

desaparecida a las 48 h de incubación sobre el tratamiento testigo en cuatro de los cinco casos. En un experimento similar al presente, Galina *et al.* (2004) observaron una desaparición de la MS de rastrojo de maíz *in situ* de 53% a las 96 h de incubación, siendo este un valor menor que el presente de 63 %, indicativo, probablemente, de diferencias en la actividad de las bacterias celulolíticas.

La Tabla 4 presenta los datos referentes a la digestibilidad y balance de N en el cuerpo animal. Tanto el consumo de N como su excreción fecal y urinaria fueron mayores en T1 y T2 (alfalfa) que en T3 y T4 (rastrojo), pero la cuenta final fue marcadamente favorable a los primeros en digestibilidad y N retenido en el cuerpo. Al comparar los dos tratamientos a base de rastrojo la adición de SULIBAL (T4) mejoró ($P < 0.05$) la retención de N y aumentó no significativamente la digestibilidad sobre el T3.

Tabla 4. Metabolismo y digestibilidad *in vivo* del nitrógeno en ovinos alimentados con los tratamientos experimentales

	T1	T2	T3	T4
Consumo de nitrógeno (g/d)	28.7 b	34.4 a	11.9 c	16.4 c
Nitrógeno en heces (g/d)	8.7 a	8.5 a	6.5 b	6.2 b
Nitrógeno en orina (g/d)	9.6 a	11.5 a	6.1 b	6.2 b
Nitrógeno retenido (g/d)	13.6 a	13.5 a	0.8 c	2.2 b
Digestibilidad del nitrógeno (%)	72.78 a	74.59 a	51.35 b	57.66 b

a. literales diferentes indican diferencia significativa ($P < 0.05$) entre columnas

Literatura Citada

- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. 23rd Edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C., USA.
- Caja, G., E. González, C. Flores, M. D. Carr y E. Albanell. 2003. Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes: probióticos, enzimas y ácidos orgánicos. XIX curso de especialización FEDNA. Madrid, 23 y 24 de octubre de 2003.
- Chen, B. X. 1995. *Neway Excel*. Rowett Institute, Aberdeen, Escocia.
- Corona, L., G. D. Mendoza, F. A. Castrejón, M. M. Crosby, and M. A. Cobos. 1999. Evaluation of two yeast cultures (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal fermentation and digestion in sheep fed a corn stover diet. *Small Rum. Res.* 31: 209-214.
- Elías, A. 1983. Digestión de pastos y forrajes. Capítulo IV En: Los pastos en Cuba. Ed. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba. p. 187-246.
- Galina, M. A., J. D. Hummel, M. Sánchez, and G. F. W. Haenlein 2004. Fattening Rambouillet lambs with corn stubble or alfalfa, slow intake urea supplementation or balanced concentrate. *Small Rum. Res.* 53: 89-98
- Galina, M. A., M. Guerrero, and D. C. Puga. 2004a. Economical and sociological development through management of fibrous forages. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 35(Suppl. 1):15-17.
- Kamra, D. N. 2005. Rumen Microbial Ecosystem. Special Section: Microbial Diversity. *Current Science*, 89(1) India.
- Kung, L. Jr. and A. O. Hession. 1995. Preventing *in vitro* lactate accumulation in ruminal fermentations by inoculation with *Megasphaera elsdenii*. *J. Anim. Sci.* 73:250-256.
- Leng, R. A. 1990. Factors affecting the utilization of "poor quality" forages by ruminant animals particularly under tropical conditions. *Nutr. Res. Rev.* 3:277-303.
- Leng, R., T. R. Preston, Sansoucy, and G. Kunju. 1991. Multinutrient blocks as a strategic supplement for ruminants. *World Anim. Rev.* 62(2): 11-19.
- Mwenya, B., B. Santoso, G. Sar, T. Gamo, I. Kobayashi, I. Arai, and J. Takashashi. 2004. Effects of including β 1-4 galacta-oligosaccharides, lactic acid bacteria or yeast culture on methanogenesis as well as energy and nitrogen metabolism in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 115:313-326.
- Newbold, C. J., R. J. Wallace, X. B. Chen, and F. M. McIntosh. 1995. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers *in vitro* and in sheep. *J. Anim. Sci.* 73, 1811-1818.
- Ørskov, E. R., F. Hovell y F. Mould. 1980. Uso de la técnica de la bolsa de nylon para la evaluación de alimentos. *Prod. Anim. Trop.* 5:213-233.
- Preston T. R. y R. Leng. 1989. Adecuando los sistemas de producción pecuaria a los recursos disponibles. Aspectos básicos y aplicados del nuevo enfoque sobre la nutrición de rumiantes en el trópico. (1^a Ed. en español). Consultorías para el desarrollo rural integrado en el Trópico (CONDRIT). Cali, Colombia.
- SAGARPA. 2005. Estadísticas ganaderas. Estimación de consumo nacional aparente. <http://ganaderia.sagarpa.gob.mx/Dgg/CNAcap.htm>.
- SAS, Institute Inc. 2005. Statistical Analysis System. User's Guide: Statistics. Version 9.1. Ed. Cary, N. C., 320 pp.