



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

CENTRO UNIVERSITARIO UAEM TEMASCALTEPEC

LICENCIATURA DE INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

**RESPUESTA PRODUCTIVA, DIGESTIBILIDAD DE LOS NUTRIENTES Y  
PARÁMETROS DE FERMENTACIÓN RUMINAL EN OVINOS, RECIBIENDO  
CLORHIDRATO DE ZILPATEROL**

T E S I S

QUE PRESENTA:

VERÓNICA GONZÁLEZ DEL PRADO

COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL TÍTULO DE  
INGENIERA AGRÓNOMA ZOOTECNISTA

DIRECTOR DE TESIS:

DR. ROLANDO ROJO RUBIO

ASESORES DE TESIS:

DR. SAMUEL REBOLLAR REBOLLAR

DR. ULISES MACIAS CRUZ



TEMASCALTEPEC, ESTADO DE MÉXICO DICIEMBRE DE 2014.

## RESUMEN

Seis ovinos de lana (Suffolk x Hampshire) con un peso vivo inicial de  $30.6 \text{ kg} \pm 2.6 \text{ kg}$  fueron distribuidos en doble cuadro latino  $3 \times 3$  para evaluar el efecto de tres niveles del beta adrenérgico agonista Clorhidrato del Zilpaterol (0, 10 y 20 mg de clorhidrato de zilpaterol/ovino/día) sobre la respuesta productiva, características de la fermentación ruminal y digestibilidad de los nutrientes de una dieta típica para la finalización de ovinos en corral. Cada periodo experimental tuvo una duración de 15 días con 10 de ellos de adaptación a la dieta y 5 para la colección de muestras. Toda la información colectada se analizó mediante análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM de paquete estadístico SAS y la diferencia entre medias por la prueba de Tukey. El clorhidrato de zilpaterol no tuvo efecto ( $P > 0.05$ ) sobre el consumo de materia seca, ganancia diaria de peso o eficiencia alimenticia. Respecto a las variables de fermentación ruminal (pH, concentración de metano, ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico y relación acético/propiónico) no se observó efecto ( $P > 0.05$ ) de tratamientos; la misma respuesta ( $P > 0.05$ ) se cuantificó para la digestibilidad de los nutrientes (materia seca, materia orgánica, proteína cruda, extracto etéreo, fibra detergente neutro y fibra detergente ácida). Bajo las condiciones que se desarrolló el experimento, el clorhidrato de zilpaterol no modificó las variables productivas, características de fermentación ruminal y digestibilidad de los nutrientes de la dieta evaluada. Se recomienda realizar otra evaluación, donde las unidades experimentales se muestrean al final del periodo recomendado en el uso del clorhidrato de zilpaterol (día 28 al 32 del periodo de dosificación), en virtud de que la rotación de tratamientos en el cuadro latino en la presente investigación pudo haber enmascarado el efecto de los tratamientos sobre las variables respuesta evaluadas.

**Palabras clave:** Clorhidrato de zilpaterol, respuesta productiva, digestibilidad *in vivo*, fermentación ruminal.

## ÍNDICE DE FIGURAS

| <b>Figura</b> | <b>Nombre</b>  | <b>No.</b> |
|---------------|--|------------|
| 1             | Estratificación de la digesta ruminal, la cual determina la tasa de pasaje de alimento hacia el tracto posterior.  | 16         |
| 2             | Unidad metabólica de pequeños rumiantes en el Centro Universitario UAEM Temascaltepec.   | 34         |
| 3             | Colección total de heces de cada periodo experimental  | 37         |
| 4             | Muestreo de líquido ruminal con la ayuda de una bomba de vacío manual.   | 37         |
| 5             | Medición de pH del líquido ruminal.  | 38         |
| 6             | Acidificación de líquido ruminal para la determinación de AGV'S.   | 38         |
| 7             | <b>A.</b> Peso de la muestra, <b>B.</b> Peso de la mezcla catalizadora, <b>C.</b> Introducción de la muestra y mezcla catalizadora en los tubos. <b>D.</b> Adición de ácido sulfúrico, Inicio de la digestión. | 62         |
| 8             | <b>A.</b> Terminó de la digestión, <b>B.</b> Preparación de las muestras para realizar la titulación.  | 63         |
| 9             | <b>A.</b> Pesado de la muestra, <b>B.</b> Sellado de las bolsas ANKOM.   | 67         |
| 10            | <b>A.</b> Elaboración de las soluciones para FDN y FDA, <b>B.</b> Preparación de las bolsas, <b>C.</b> Adición de FDN, <b>D.</b> Realización de la digestión, <b>E.</b> Secado de las muestras.                | 68         |
| 11            | <b>A.</b> Preparación de las muestras de FDN, <b>B.</b> Adición de FDA, <b>C.</b> Inicio de la digestión, <b>D.</b> Secado de las muestras.  | 72         |
| 12            | <b>A.</b> Peso de la muestra, <b>B.</b> Dobles del papel para asegurar la muestra.   | 75         |
| 13            | <b>A.</b> Preparación de las muestras en el Soxhlet para iniciar la extracción, <b>B.</b> Secado de las muestras al aire libre para ser introducidas posteriormente a la estufa de secado.                     | 76         |

## ÍNDICE DE CUADROS

| <b>Cuadro</b> | <b>Nombre</b>  | <b>No.</b> |
|---------------|--|------------|
| <b>1</b>      | Secuencia cronológica de cuando los promotores de crecimiento fueron aprobados por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, para su uso en la alimentación de la Ganado Bovino. | 27         |
| <b>2</b>      | Dietas experimentales que recibieron los corderos durante la fase experimental   | 35         |
| <b>3</b>      | Las fuentes de variabilidad y grados de libertad se presentan en la siguiente tabla.   | 40         |
| <b>4</b>      | Arreglo de tratamiento de acuerdo al diseño de cuadro latino 3 x 3 repetido en espacio.  | 40         |
| <b>5</b>      | Comportamiento productivo en ovinos de lana, suplementados con diferentes niveles de clorhidrato de zilpaterol (CZ).   | 41         |
| <b>6</b>      | Características de fermentación ruminal en ovinos de lana suplementados con diferentes niveles de clorhidrato de zilpaterol (CZ).  | 44         |
| <b>7</b>      | Digestibilidad de los nutrientes en ovinos de lana suplementados con diferentes niveles de clorhidrato de zilpaterol (CZ).   | 46         |

## CONTENIDO

|  |     |
|--|-----|
| DEDICATORIA.....                                       | ii  |
| AGRADECIMIENTOS .....                                  | iii |
| RESUMEN .....  | iv  |
| ÍNDICE DE FIGURAS .....                                | v   |
| ÍNDICE DE CUADROS .....                                | vi  |
| CONTENIDO.....   | vii |
| I. INTRODUCCIÓN .....                                  | 10  |
| II. OBJETIVOS .....                                    | 11  |
| 2.1. Objetivo general .....                            | 11  |
| 2.2. Objetivos específicos.....                        | 11  |
| III. BAJO LA HIPÓTESIS DE: .....                       | 12  |
| IV. REVISIÓN DE LITERATURA .....                       | 13  |
| 4.1. Características de la fermentación ruminal .....  | 13  |
| 4.2. Propiedades físicas del rumen .....               | 13  |
| 4.2.1. Mucosa del rumen .....                          | 14  |
| 4.2.2. Mucosa del retículo .....                       | 15  |
| 4.2.3. Omaso .....                                     | 15  |
| 4.2.4. Mucosa del abomaso .....                        | 15  |
| 4.2.5. Principales características de cada fase: ..... | 16  |
| 4.3. Propiedades químicas del rumen .....              | 17  |
| 4.3.1. Osmolaridad .....                               | 17  |
| 4.3.2. Potencial redox.....                            | 18  |
| 4.3.3. pH en el rumen .....                            | 18  |
| 4.3.4. Capacidad búffer .....                          | 19  |

|   |    |
|---|----|
| 4.4. Microorganismos del rumen .....  | 20 |
| 4.4.1. Bacterias.....   | 20 |
| 4.4.2. Hongos .....   | 21 |
| 4.4.3. Protozoarios .....   | 21 |
| 4.5. Fermentación ruminal.....  | 23 |
| 4.5.1. Producción de gas en los rumiantes .....   | 24 |
| 4.5.2. Metano.....  | 24 |
| 4.5.3. Amoniaco.....  | 24 |
| 4.5.4. Ácidos grasos volátiles (AGV'S) en el rumen.....   | 25 |
| 4.6. Los esteroides anabólicos .....  | 26 |
| 4.6.1. Generalidades de los $\beta$ -agonistas adrenérgicos (AA- $\beta$ ).....   | 27 |
| 4.6.2. Mecanismo de acción de los $\beta$ -agonistas adrenérgicos (AA- $\beta$ ) .....  | 29 |
| 4.6.3. Residuos en animales tratados con AA- $\beta$ .....  | 30 |
| 4.6.4. El agonista adrenérgico - $\beta$ Clorhidrato de Zilpaterol (CZ) .....   | 32 |
| 4.6.5. Respuesta productiva de bovinos y ovinos recibiendo clorhidrato de zilpaterol (CZ) durante el periodo de finalización en la engorda intensiva en corral..... | 33 |
| V. MATERIALES Y MÉTODOS .....   | 34 |
| 5.1. Sitio experimental .....   | 34 |
| 5.2. Animales, manejo y alimentación .....  | 34 |
| 5.3. Tratamientos.....  | 35 |
| 5.4. Variables respuesta .....  | 36 |
| 5.5. Diseño experimental.....   | 39 |
| 5.6. Análisis estadístico .....   | 40 |
| VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....  | 41 |
| 6.1. Variables productivas .....  | 41 |
| 6.2. Variables de fermentación ruminal .....  | 43 |
| 6.3. Digestibilidad de los nutrientes .....   | 46 |

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| VII. CONCLUSIÓN .....             | 48 |
| VIII. FINANCIAMIENTO .....        | 49 |
| IX. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA ..... | 50 |
| Anexo 1 .....                     | 57 |
| ANEXO 2.....                      | 58 |

## I. INTRODUCCIÓN

Los esteroides anabólicos han sido ampliamente utilizados en la industria productora de carne por más de 50 años de una forma segura y efectiva como agentes promotores del crecimiento, y actualmente más del 90 % del ganado bovino engordado en corral en los Estado Unidos recibe algún tipo de implante esteroidal durante su periodo productivo (NAHMS, USDA 2000). Generalmente, los implantes han demostrado incrementar la tasa de crecimiento de 8 al 28 %, mejorar la conversión alimenticia de 5 a 20 % y aumenta la masa muscular magra de la canal de 3 a 10% (Duckett y Owens, 1997). Esta mejora en la eficiencia de la producción tiene múltiples beneficios: 1) reduce los costos de producción al reducir la cantidad de alimento requerido por unidad de ganancia; 2) reduce la cantidad de tierra necesaria para producir cantidades equivalentes de alimento para los consumidores (Avery, 2007); 3) disminuye la producción de gases que causan el efecto invernadero por tener animales más eficientes produciendo la misma cantidad de carne con menos animales. Recientemente una nueva clase de promotores de crecimiento activados oralmente, conocidos como  $\beta$ -adrenérgicos agonistas (BAA; raptopamina-HCl-2003 y Zilpaterol-HCl, 2006) han sido aprobados para su uso en la finalización de bovinos y ovinos durante los últimos días de su periodo de engorda. Estos productos proveen resultados similares a los implantes esteroidales, en mejoras de la ganancia diaria de peso, conversión alimenticia, eficiencia alimenticia y consumo de materia seca; si bien, esta respuesta ha sido explicada por el mecanismo de acción que tienen los BAA a nivel tisular, al ser repartidores de energía; sin embargo no existen estudios donde se demuestre que en la digestión de los nutrientes y ambiente ruminal no existen cambios. Por tal motivo en el presente trabajo se planteó:



## II. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de tres niveles de clorhidrato de zilpaterol sobre la respuesta productiva, digestibilidad de los nutrientes y parámetros de fermentación ruminal en ovinos durante su etapa de finalización en corral de engorda, recibiendo una dieta basal alta en grano.

### 2.2. Objetivos específicos

- Conocer la respuesta productiva en términos de ganancia diaria de peso, consumo de materia seca y eficiencia alimenticia en ovinos suplementados con tres niveles de Clorhidrato de Zilpaterol durante su etapa de finalización en corral de engorda.
- Determinar consumo, digestibilidad de los nutrientes (MS, MO, PC, EE, FDN y FDA) en ovinos suplementados con tres niveles de Clorhidrato de Zilpaterol durante su etapa de finalización en corral de engorda.
- Conocer los principales parámetros de fermentación ruminal (pH, CH<sub>4</sub>, acético, propiónico, butírico y relación acético/ propiónico) en ovinos suplementados con tres niveles de Clorhidrato de Zilpaterol durante su etapa de finalización en corral de engorda.

### **III. BAJO LA HIPÓTESIS DE:**

La inclusión de Clorhidrato de Zilpaterol, no afecta la digestibilidad de los nutrientes y parámetros de fermentación ruminal en ovinos suplementados con tres niveles de Clorhidrato de Zilpaterol durante su etapa de finalización en corral de engorda.

## IV. REVISIÓN DE LITERATURA

### 4.1. Características de la fermentación ruminal

La fermentación en el rumen es el resultado de actividades físicas y microbiológicas que transforman los componentes de la dieta en productos que son útiles (ácidos grasos volátiles, proteína microbiana, vitaminas del grupo B), inútiles ( $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}_2$ ) o incluso nocivos (amoníaco, nitrato) para el animal huésped. Los rumiantes mantienen la población microbiana en el rumen al ingerir y masticar alimentos con regularidad, añadiendo tampones y eliminando los ácidos producidos, arrastrando los productos microbianos y los residuos alimenticios no digestibles, manteniendo unas condiciones (pH, temperatura, humedad), apropiadas para el crecimiento microbiano.

Con dietas basadas en forrajes, los ácidos grasos volátiles (AGV'S) proporcionan el 50 al 85% de la energía metabolizable utilizada por los rumiantes. La capacidad de absorción de (AGV'S) supera en seis a ocho veces las necesidades de energía para mantenimiento de las ovejas en crecimiento y en unas nueve veces las necesidades de mantenimiento de las vacas lactantes. Así, la absorción no es una etapa limitativa en el metabolismo (Church, 1988).

### 4.2. Propiedades físicas del rumen

Los rumiantes poseen el beneficio de tener una cámara fermentativa pre - gástrica, formada por tres compartimientos: el retículo, rumen y omaso. Estos compartimientos, también llamados pre estómagos, se caracterizan por tener un epitelio no secretor, a diferencia de lo que es la cavidad gástrica propiamente del abomaso (Van y Regueiro, 2008). En un rumiante adulto el estómago puede llegar a ocupar hasta el 75 % de la cavidad abdominal y junto con su contenido representa alrededor del 30 % del peso vivo del animal. Se divide en cuatro cavidades: retículo, rumen, omaso y abomaso. Solo este último es glandular y funcionalmente análogo al estómago al del no - rumiante, mientras que los anteriores están cubiertos por un epitelio queratinizado y carecen de glándulas.

#### **4.2.1. Mucosa del rumen**

La superficie de la mucosa del rumen se caracteriza por las papilas ruminales que pueden definirse como órganos de absorción. Su distribución, tamaño y número se relaciona, íntimamente con los hábitos alimenticios, disponibilidad y digestibilidad del forraje. Así en cierta medida las papilas pueden ser variadas. La división de los rumiantes en tres tipos morfo fisiológicos de alimentación se basa principalmente en la adaptación evolutiva del aparato digestivo, especialmente del pre - estómago. Sus características típicas son fijadas genéticamente aunque puedan variar considerablemente bajo unas condiciones distintas de alimentación, determinando adaptaciones importantes que generalmente son temporales o estacionales. Los selectores de concentrados presentan papilas ruminales de forma uniforme. No existen zonas sin papilas, e incluso los pilares se encuentran más o menos cubiertos de papilas. El muestreo representativo de la mucosa del rumen en tan solo cuatro regiones definidas del rumen proporciona datos indicativos sobre la situación nutritiva de un rumiante, especialmente si se vive libre en los pastos. Los cambios en las papilas del rumen y, en consecuencia del factor de aumento de superficie en respuesta a cambios nutritivos requieren un periodo de adaptación de dos a tres semanas.

Los cambios estacionales adaptativos de la mucosa del rumen son más intensos en los rumiantes de alimentación intermedia, como las cabras, ciervos, alce o impala. Los cambios tienen lugar particularmente sobre la mucosa de la pared dorsal del saco ruminal dorsal. Al aumentar las proporciones de ácido butírico y propiónico liberadas por las bacterias ruminales se incrementa el flujo de sangre en el rumen que estimula la mitosis en las células de la mucosa determinando brotes vasculares y proliferación de células epiteliales. Finalmente. Las papilas del rumen aumentan en tamaño y número o experimentan una regresión cuando se provoca una destrucción celular por el consumo de forraje fibroso que determina la formación de una proporción muy elevada de ácido acético aunque muy baja en butírico y propiónico, como sucede durante el invierno o periodos de sequía (Church, 1988).

#### **4.2.2. Mucosa del retículo**

La mucosa presenta crestas que se entrecruzan para separar retículos de celdillas, que son profundos y subdivididos por crestas secundarias o terciarias en animales consumidores de gramíneas y forrajes, aunque son poco profundos y subdivididos en especies de selectores de concentrados. En este último grupo las crestas bajas y el fondo de las celdillas aparecen tachonados con las papilas cornificadas puntiagudas que se interdigitan en las contracciones. Las crestas primarias de la mucosa contienen una capa muscular específica que se origina en la cubierta mucosa del labio izquierdo de la gotera reticular. La contracción de esta musculatura estrecha la entrada de las celdillas, originando la retención temporal de partículas de alimentos groseros. En este nivel las crestas se transforman en papilas. Por consiguiente, la porción dorsal de la mucosa reticular consiste en pailas que se fusionan a través de la abertura retículo - ruminal (Church, 1988).

#### **4.2.3. Omaso**

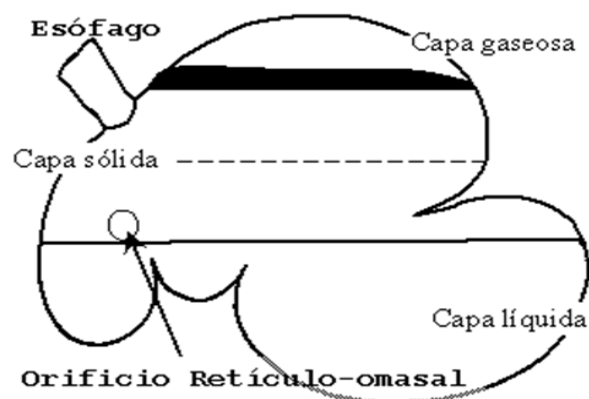
La abertura del retículo - omaso ha sido considerada por algunos fisiólogos que trabajan con ovejas y ganado vacuno como el cuello de botella para el flujo de salida del retículo - rumen y, en consecuencia, para el paso del alimento. Esto, a su vez, limita la ingestión de alimento nuevo. La estructura de la abertura, sin embargo, difiere según sean los distintos tipos de alimentación de los rumiantes. Existen indicios razonables de que al menos rumiantes que pertenecen a los tipos de alimentación de selectores de concentrados y consumidores intermedios pueden regular el tamaño de este orificio, permitiendo así algunas veces que pasen también partículas fibrosas grandes que no pueden ser totalmente descompuestas en el rumen (Church, 1988).

#### **4.2.4. Mucosa del abomaso**

El abomaso tiene una mucosa gástrica glandular similar al de otros mamíferos. En general, es más delgada en especies que consumen gramíneas y forrajes

que en los selectores de concentrados. No existe una región concreta que contenga glándulas cardíacas. La porción inicial ancha del abomaso es la región que contiene las glándulas gástricas verdaderas. Las especies consumidoras de concentrados presentan una proporción mucho mayor de células parietales productoras de HCL por unidad de superficie en estas glándulas. La mucosa del fondo y cuerpo del abomaso está dispuesta formando pliegues espirales permanentes que son relativamente altos en animales que consumen gramíneas y forrajes y más bajos en los consumidores de concentrados. Su altura disminuye hacia la región pilórica del órgano. Dos de estos pliegues proceden de los velos del abomaso y discurren paralelos a lo largo de la curvatura menor del abomaso (Church, 1988).

En el rumen, la digesta se encuentra estratificada de acuerdo a su densidad específica, determinada por el tiempo de permanencia del alimento, en la (figura 1), se muestran estas características.



**Figura 1.** Estratificación de la digesta ruminal, la cual determina la tasa de pasaje de alimento hacia el tracto posterior.

#### **4.2.5. Principales características de cada fase:**

**Capa gaseosa:** Se localiza en la parte superior y en ella se encuentran los gases producidos durante la fermentación de los alimentos.

**Capa sólida:** Está formada principalmente por alimento y microorganismos flotantes. El alimento consumido más recientemente, por ejemplo el día de hoy, se establece en la parte superior de esta capa, debido a que posee partículas de gran tamaño (1 - 2 cm), las cuales atrapan a los gases producidos. El alimento consumido con más anterioridad, por ejemplo ayer, se localiza al fondo de la capa sólida, debido a que ya fue fermentado suficiente y se redujo su tamaño (2 - 3 mm), en este momento puede ser captado por el retículo y salir a través del orificio retículo - omasal.

**Capa líquida:** Se localiza ventralmente y contiene líquido con pequeñas partículas de alimento y microorganismos suspendidos.

### **4.3. Propiedades químicas del rumen**

La fermentación del rumen es el resultado de actividades físicas y microbiológicas que transforman los componentes de la dieta en productos que son útiles tales como ácidos grasos volátiles, proteína microbiana, vitaminas del grupo B, amonio y nitrógeno amoniacal, para el animal huésped. Los rumiantes mantienen la población microbiana en el rumen al ingerir y masticar alimentos con regularidad, añadiendo tampones y eliminando los ácidos producidos, arrastrando los productos microbianos y los residuos alimenticios no digestibles y manteniendo unas condiciones de pH, temperatura, y humedad apropiadas para el crecimiento microbiano (Church, 1988).

#### **4.3.1. Osmolaridad**

Las condiciones del rumen varían intensamente debido a las circunstancias ambientales y dietéticas, la fermentación normal tiene lugar con una osmolaridad entre (260 y 340 mOsm), esto dependiendo de la alimentación que consume el animal ya sea concentrados o forrajes, ya que una presión osmótica de (260 mOsm) es sumamente favorable para los protozoos ciliados y por encima de (350 mOsm) se inhibe la digestión del almidón y de la fibra a través de un efecto directo sobre el metabolismo microbiano así mismo se ve

alterada la rumia. El flujo neto de agua a través de la pared del rumen pequeño con una osmolaridad normal, aunque se detecta entrada de agua a través de la pared del rumen con osmolaridad elevada o salida de agua hacia la sangre con osmolaridad baja. (Church, 1988).

#### **4.3.2. Potencial redox**

El ambiente intraruminal es anaerobio por excelencia, lo que indica que se encuentra constantemente en condiciones de reducción. Sin embargo, es posible encontrar muy poco oxígeno en ocasiones, producto posiblemente, de su introducción a través del alimento ingerido o el agua (Church, 1974). Dicho ambiente favorece la supervivencia de microorganismos anaerobios. La baja concentración de oxígeno en el rumen, según lo indica un potencial negativo de oxidación entre - 250 y - 450 milivoltios (mV), estimula el crecimiento de este tipo de microorganismos, que solamente pueden desarrollarse en ausencia de oxígeno o cuando su concentración es mínima (anaerobios obligados) (Yokoyama y Johnson, 1988).

#### **4.3.3. pH en el rumen**

Existen diversos factores que intervienen sobre los niveles del pH en el rumen. La naturaleza de la dieta suministrada es un factor determinante en las fluctuaciones del pH ruminal, aunque los rumiantes poseen un sistema altamente desarrollado para mantener el pH dentro de los límites fisiológicos 5,5 a 7,0 (Krause y Oetzel, 2006).

El consumo de forrajes toscos estimula elevadas secreciones de saliva, y los carbohidratos de los forrajes son lentamente digeribles, mientras que el consumo de granos, con carbohidratos rápidamente digeribles genera una importante concentración de ácidos orgánicos (Fischer *et al.*, 1994). El consumo excesivo de carbohidratos rápidamente fermentables resulta en un aumento de la concentración de ácido láctico y en una repentina baja de pH (Krause y Oetzel, 2006), pero la magnitud de la disminución del pH debido a un



aumento en la tasa de fermentación ruminal dependerá de la capacidad búffer del rumen (Counotte *et al.*, 1979).

El pH del rumen varía considerablemente durante el día (Krause y Oetzel, 2006) e influye profundamente sobre la población microbiana (Yokoyama y Johnson, 1988). El pH del rumen baja progresivamente inmediatamente después del suministro del alimento y retorna a los niveles previos a la suplementación en 24 horas (Crater *et al.*, 2007). En los sistemas intensivos de producción, donde la utilización de concentrados es alta, la tasa de degradación de la fibra del alimento es disminuida por efecto del pH sobre la actividad celulolítica de los microorganismos. En estas condiciones de alimentación, disminuye la rumia y por consiguiente, la secreción de saliva disminuye, lo cual impide que lleguen al rumen los álcalis contenidos en ella, obstruyendo su acción como neutralizantes de los AGCC. Cuando el pH cae a niveles por debajo de 5,5 se reduce el número de especies de bacterias y los protozoarios no sobreviven, hay un aumento de la osmolaridad del contenido ruminal, se inhibe el consumo, convirtiendo las condiciones del rumen en menos estables y con menor capacidad para mantener el pH en condiciones normales con cambios en la dieta (Krause y Oetzel, 2006).

#### **4.3.4. Capacidad búffer**

La acción búffer es la capacidad de una solución para resistir cambios en el pH (Giger *et al.*, 2002), y está definida como el número de moles por litro de H<sup>+</sup> necesarios para causar un cambio en el pH. La del rumen está definida principalmente por el valor de pH, presión parcial de CO<sub>2</sub> y la concentración de sales de ácidos grasos de cadenas cortas (AGCC) (Counotte *et al.*, 1979). El sistema búffer del rumen es muy complejo, descansando sobre una abundante producción de saliva, la remoción de los AGCC a través de la absorción en la pared ruminal, el consumo por parte de los microorganismos, las sales minerales que reaccionan con los ácidos orgánicos vegetales produciendo CO<sub>2</sub>, la proteína del alimento y el nitrógeno no proteico que al ser degradado generan NH<sub>3</sub>, neutralizan los ácidos en el proceso.

La medida del buffer del contenido ruminal es útil al expresar la capacidad de éste para mantenerse más o menos estable a determinado rango de pH. Las abundantes secreciones salivales de bicarbonato y fosfato tamponan la fermentación del rumen generalmente con un pH entre 6 y 7 (Yokoyama y Johnson, 1988). La capacidad buffer del fluido ruminal de animales alimentados a confinamiento y a pastoreo, contra las condiciones de acidez encontradas en el rumen por efecto de la producción de AGCC fue estudiada por (Bloomfield *et al.*, 1966).

#### **4.4. Microorganismos del rumen**

Los microorganismos del rumen son principalmente bacterias, protozoarios y hongos anaerobios y dependen del rumiante para disponer de las condiciones fisiológicas necesarias para su existencia. A su vez, estos microorganismos son esenciales para la digestión y fermentación de las grandes cantidades de alimentos fibrosos que consumen los rumiantes que, de otra forma, no podrían utilizar de forma eficiente. De esta manera al proporcionar un hábitat idóneo a estos microorganismos, el rumiante puede utilizar los productos finales de la fermentación microbiana y actividades biosintéticas, para cubrir sus necesidades nutritivas (Church, 1988).

##### **4.4.1. Bacterias**

Se han identificado 23 géneros y 70 especies de bacterias ruminales, las cuales están clasificadas como celulolíticas, hemicelulolíticas, pectinolíticas, amilolíticas, ureolíticas, proteolíticas, utilizadores de azúcares simples, productores de amoníaco y metano, así como de ácidos y lípidos (Czerkawski, 1986). Las bacterias del rumen se consideran las más importantes, tanto en concentración como en actividad en el proceso de fermentación y degradación del alimento ingerido por el animal. La concentración total de bacterias en el rumen varía de  $10^{10}$  a  $10^{12}$  por ml de líquido ruminal; la mayor parte de las bacterias del rumen son cocos o bacilos cortos, cuyo tamaño oscila de 0.4 a 1.0 micras de diámetro y de 1 a 3 micras de longitud y también se pueden

encontrar en forma de espiroquetas, rosetas ovales y tetracocos. La identificación de las especies móviles está relacionada con la presencia de flagelos. Según Church, (1988), morfológicamente las bacterias se pueden clasificar por las reacciones de coloración, capacidad de esporulación, el sustrato que degradan, las características nutritivas, límites de pH óptimo para su crecimiento, por su composición química celular y por los productos finales del metabolismo

#### **4.4.2. Hongos**

Se ha calculado que la población de hongos en el rumen es 8 % del total de la biomasa microbiana ruminal; sin embargo, su concentración es difícil de cuantificar (Orpin y Joblin, 1988). Según otros estudios, la concentración de formas vegetativas es de  $10^3$  a  $10^4$  zoosporas por ml, de líquido ruminal (Wallace, 1993).

Los hongos anaeróbicos, desempeñan una función importante en la digestión de las paredes celulares (Akin y Borneman, 1990; Orpin, 1975). Según Preston y Leng, (1989), son los primeros organismos en invadir e iniciar la digestión de los carbohidratos estructurales de los vegetales; inician la colonización en la parte interna del tejido de las plantas y de esta forma, las bacterias colonizan dicho tejido e inician su actividad en el tejido vegetal. Los hongos también tienen la capacidad de producir hemicelulosa (Akin y Borneman, 1990). Las enzimas celulolíticas de los hongos tienen una actividad importante, debido a que sintetizan pequeñas cantidades de enzimas con una elevada actividad (Weimer, 1996).

#### **4.4.3. Protozoarios**

Según Coleman, (1979) y Coleman *et al.*, (1977), los protozoarios se encuentran en rumiantes que consumen dietas fibrosas con una densidad poblacional baja ( $< 10^5$  por ml de líquido ruminal), que (aumenta a  $4 \times 10^6$  por ml de líquido ruminal) cuando las dietas son ricas en almidones y azúcares.

Existen dos tipos principales de protozoarios en el rumen: ciliados y flagelados. Los primeros son más importantes en concentración y actividad, y pertenecen a la subclase de los *Holotricos*, protozoarios de mayor movilidad y tamaño, dentro de los cuales destacan los géneros *Isotricha* y *Dasitricha* (Williams y Coleman, 1988). De acuerdo con Preston y Leng, (1989), en la subclase de los *espirotricos*, orden *entodinimorfos* de menor tamaño, está el género *Diplodinium*, que se encuentra en rumiantes que consumen dietas ricas en azúcares y fibra como la caña de azúcar y pastos tiernos, el cual consiste en una combinación de carbohidratos solubles e insolubles. El flagelo más predominante en el rumen es *Pentratrichomonas hominis*, y se reportan algunos *Tetratrichomonas buttreyiruminantium* (Jensen y Hammond, 1964), los cuales tienen una población inferior de  $10^5$  (Williams y Coleman, 1988). Sin embargo Van y Regueiro, (2008) mencionan que los protozoarios no son fundamentales para la digestión en el rumen; se ha visto que los rumiantes pueden sobrevivir sin la presencia de protozoarios ruminales. Su función no está del todo dilucidada, pero se sabe que enlentecen la digestión de sustratos altamente digestibles almidón, englobándolos en su interior y protegiéndolos así de la rápida acción bacteriana (Van y Regueiro, 2008).

A pesar de que la función de los protozoarios no están totalmente dilucidadas (Hungate, 1984), su presencia en el rumen favorece la digestión de la fibra (Jouany, 1994) e incrementa la actividad celulolítica (Williams y Coleman, 1988). Se ha estimado que los protozoarios contribuyen de un 30 al 60 % de la digestión ruminal de la fibra (Bonhome, 1988).

Los protozoarios son afectados fuera del rango de pH entre 5.5 y 8.0, y el óptimo para su actividad es alrededor de 6.5 (Hungate, 1984), sin embargo las especies pueden tener distinta susceptibilidad a la acidez.

La población de ciliados se incrementa 5 o 6 veces su población cuando se incluyen almidones y carbohidratos solubles hasta el punto donde la acidez los afecta negativamente.

#### 4.5. Fermentación ruminal

La fermentación ruminal es la actividad metabólica de los microorganismos presentes en el rumen. Tiene aspectos que difieren de la digestión glandular propia de los animales mono gástricos (como el cerdo). En los rumiantes, la degradación de los sustratos moleculares por la acción de bacterias y otros microorganismos se realiza por una hidrólisis enzimática igual que en la digestión glandular; la diferencia mayor es que las enzimas digestivas en la fermentación son de origen microbiano, por lo que se le denomina (digestión aloenzimática). Esta digestión fermentativa es más lenta y los sustratos son alterados en mayor grado que en la digestión glandular. Además la fermentación ocurre en un medio anaerobio. La digestión aloenzimática puede ocurrir en solo dos sitios del tracto gastrointestinal. Estos sitios son el retículo - rumen que son compartimentos llamados pre - estómagos donde ocurre una pre - fermentación pre gástrica. Sin embargo los pre - estómagos carecen de enzimas propias para degradar los alimentos ingeridos por el rumiante, es en esta cámara que se realiza la mayor parte de la digestión del alimento debido a la fermentación microbiana principalmente por hidrólisis y oxidación anaeróbica (Van y Regueiro, 2008).

Al constituir un sistema abierto y continuo, el rumen aporta el volumen y el tiempo de retención necesario para que el alimento ingerido por el animal sea degradado y fermentado por los microorganismos ruminales. Este ambiente acuoso proporciona las condiciones precisas para que las interacciones entre las actividades microbianas ruminales, las enzimas producidas por los mismos microorganismos y los nutrientes, sean óptimas (Yokoyama y Johnson, 1988).

Los microorganismos ruminales se encargan de degradar los carbohidratos y las proteínas de forma total y parcial a monómeros para su fermentación o absorción (Wallace y Cotta, 1998; Erasmus *et al.*, 1994; Hoover y Stokes, 1991) con el objetivo principal de obtener energía y proteína microbiana (Dewhurst, *et al.*, 2000; Stern y Hoover, 1979).

#### **4.5.1. Producción de gas en los rumiantes**

#### **4.5.2. Metano**

Los rumiantes son responsables de alrededor del 23 % de la producción de metano global. Esto es una consecuencia inevitable de la fermentación de los carbohidratos en el rumen. El gas se emite a la atmósfera mediante la eructación y la cantidad liberada depende de la cantidad del alimento consumido y de la composición de la ración, la que es menor en dietas bajas en fibra (Galindo *et al.*, 2011).

Más del 10 % de la energía bruta en el alimento se pierde en forma de metano. Además, la producción de metano por los microorganismos del rumen es estimada en 300 – 600 litros al año en ganado adulto (Jouany, 1994).

Este gas es uno de los que más contribuyen al efecto invernadero y es responsable del 18 % del fenómeno. Por estas razones, muchas investigaciones se dirigen a encontrar vías para reducir la emisión de metano por los rumiantes (Johnson *et al.*, 2000).

#### **4.5.3. Amoniaco**

Entre el 40 y el 100 % de la proteína microbiana deriva del amoniaco. Esta proporción variará en función de las condiciones ruminales y alimentarias (Stern y Hoover, 1979). En determinadas especies, como las principales bacterias celulolíticas (*Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Fibrobacter succinogenes*), el amoniaco es el único compuesto nitrogenado que pueden incorporar a su síntesis proteica, sin ser capaces de utilizar péptidos y aminoácidos preformados. Los microorganismos del rumen utilizan proteína degradada para proporcionar amoniaco para la digestión de la fibra y para la síntesis de proteína microbiana, el grado en que la proteína es degradada en el rumen depende de la actividad proteolítica de los microorganismos del rumen, del acceso de los microorganismos hacia la proteína y de la tasa del pasaje del alimento (McAllan y Smith, 1983).

La proteína que entra al rumen – retículo tiene la posibilidad de ser degradada por bacterias y protozoarios. La degradación principalmente involucra dos pasos hidrolización de la cadena peptídica (proteólisis) para producir péptidos y aminoácidos, deaminación y degradación de aminoácidos después de la proteólisis, los péptidos y aminoácidos liberados pueden dejar el rumen – retículo y ser utilizados para el crecimiento microbial, o pueden ser degradados a amoniaco o ácidos grasos volátiles (Villalobos *et al.*, 2000).

#### **4.5.4. Ácidos grasos volátiles (AGV'S) en el rumen**

Todos los carbohidratos, independientemente de su clasificación, son fermentados en el retículo - rumen hasta glucosa y toda la glucosa pasa a piruvato. Por distintas vías metabólicas, el piruvato es transformado en acetato, propionato o butirato. El rendimiento de una glucosa es 2 piruvatos ya que el piruvato tiene 3 carbonos. Para la formación de acetato y butirato, el piruvato se transforma en acetil - coenzima A (Acetil - CoA) y en el proceso pierde un carbono. Un Acetil - CoA pasa a acetato, y para formar butirato se utilizan 2 Acetil - CoA. En la formación de propionato no hay pérdida de carbonos. Hay diferentes vías para llegar a propionato. La primera vía es la reductiva directa, donde el piruvato pasa a lactato, el lactato a Acetil - CoA, y ésta a propionato, sin que se ganen ni se pierdan carbonos. La vía aleatoria es vía el oxaloacetato. En este caso se incorpora un carbono al piruvato para formar oxaloacetato, que pasa a succinato (4 carbonos) y de ahí a propionato perdiendo el carbono que se había incorporado. En la vía aleatoria se produce oxígeno molecular (Van y Reguerio, 2008).

Los ácidos acético, propiónico y butírico, productos principales del metabolismo de los carbohidratos en el rumen, son las fuentes de energía más importante y realizan misiones de síntesis de gran interés en los rumiantes. Las cantidades de ácidos grasos volátiles producidos en el rumen durante 24 horas son muy elevadas de 300 a 400 g en el ganado ovino, además se produce otro 10 % más en el intestino grueso, que también utiliza el animal hospedador, las cantidades de AGV'S formados en el rumen y las proporciones relativas de los tres principales ácidos varían de manera grande y están afectadas por

numerosos factores de la ración, como la composición, especialmente la relación entre forrajes y concentrados, la forma física de la presentación de los alimentos el nivel de ingestión y la frecuencia de administración (Bondi, 1994).

Los AGV'S son sustratos energéticos importantes para el rumiante. Se puede apreciar la elegancia de la relación simbiótica de la digestión fermentativa al considerar el metabolismo de los AGV'S. Los AGV'S son los productos de desecho del metabolismo anaeróbico de los microorganismos, de la misma manera que el dióxido de carbono es el producto final del metabolismo aeróbico. Si se permitiera que se acumulasen los AGV'S, estos suprimirían o alterarían el proceso fermentativo al disminuir el pH del retículo - rumen. Sin embargo, el rumiante mantiene las condiciones para la fermentación al tamponar los cambios de pH y al eliminar los AGV'S del retículo - rumen por absorción de los mismos. El beneficio para el rumiante está en la energía química que contienen los AGV'S. Estos productos bacterianos de desecho representan compuestos gastados en cuanto a la energía que se pueda obtener en el marco del sistema de fermentación anaeróbico, pero aún contienen cantidades considerables de energía que pueden ser aprovechadas con el metabolismo aeróbico. En rumiantes los AGV'S son los combustibles energéticos de mayor importancia, y en gran medida cumplen el mismo rol que la glucosa en animales monogástricos omnívoros. Los herbívoros grandes como el caballo, utilizan también AGV'S como fuente energética, pero estos son derivados de la fermentación microbiana en el intestino grueso (colon y ciego). Esta fermentación post - gástrica es muy parecida a la fermentación pre - gástrica en el retículo - rumen en cuanto a los carbohidratos se refiere (Van y Reguerio, 2008).

#### **4.6. Los esteroides anabólicos**

Por más de 50 años la industria productora de carne ha utilizado diversos promotores de crecimiento con la finalidad de hacer más eficientes a los animales en términos de ganancia de peso y conversión alimenticia, dentro de los compuestos más comunes se encuentran los compuestos esteroidales, que



incluyen a los estrógenos, andrógenos y progestinas, su cronología de aprobación en los Estados Unidos se presenta en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Secuencia cronológica de cuando los promotores de crecimiento fueron aprobados por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, para su uso en la alimentación de la Ganado Bovino.

| Promotor de crecimiento                                    | Año de aprobación por la FDA |
|--|------------------------------|
| Dietilbestrol (DES) oral                                   | 1954                         |
| DES implante   | 1957                         |
| Benzoato de estradiol/progesterona (novillos)              | 1956                         |
| Benzoato de estradiol/propiónato de testosterona (heifers) | 1958                         |
| Acetato de melengastrol oral (heifers)                     | 1968                         |
| Zeranol (36 mg) implante (ganado vacuno)                   | 1969                         |
| DES oral removido del mercado                              | 1972                         |
| DES implante removido del mercado                          | 1973                         |
| Silastic estradiol (ganado vacuno)                         | 1982                         |
| Benzoato de estradiol/progesterona (calves)                | 1984                         |
| Acetato de trenbolona (TBA) implantes (ganado vacuno)      | 1987                         |
| 17- $\beta$ estradiol/implantes de TBA (novillos)          | 1991                         |
| Somatotropina bovina (vacas lecheras)                      | 1993                         |
| 17- $\beta$ estradiol/implantes de TBA (heifers)           | 1994                         |
| Zeranol (72 mg) implante (ganado vacuno)                   | 1995                         |
| 17- $\beta$ estradiol/implantes de TBA (stocker cattle)    | 1996                         |
| Hidroclorhidrato de raptopamina (cattle)                   | 2003                         |
| Hidroclorhidrato de Zilpaterol (cattle)                    | 2006                         |

#### 4.6.1. Generalidades de los $\beta$ -agonistas adrenérgicos (AA- $\beta$ )

Recientemente, los AA- $\beta$  se han adecuado para ser usados en la nutrición animal como promotores de crecimiento o agentes metabólicos. Los promotores de crecimiento se definen como aquellas sustancias distintas de los nutrientes de la ración que aumentan el ritmo de crecimiento y mejoran el índice de conversión alimenticia de los animales sanos y correctamente alimentados. Los AA- $\beta$  tuvieron su origen en la medicina humana, no como

substancias promotoras de crecimiento, sino como broncodilatadores, dado que actúan sobre el músculo liso de la vía aérea, ocasionando una reversión rápida de la obstrucción en pacientes con complicaciones respiratorias como el asma. En Medicina Veterinaria se utilizan como fármacos tocolíticos, los cuales ocasionan una disminución de calcio en las células del músculo liso uterino para inhibir la contractilidad, evitando así el parto prematuro, al mismo tiempo que aumentan la presión sanguínea. El interés por el uso de los AA- $\beta$  en la producción pecuaria posiblemente se inició cuando Baker *et al.* (1983) propuso que se podían implementar para solucionar la problemática de la excesiva deposición de grasa en las canales, y que por ende se podrían obtener carne con tejido magro, tanto intramuscular como de cobertura, hecho que podría ayudar a disminuir el riesgo de enfermedades asociadas al consumo de grasa animal saturada, colesterol elevado y enfermedades coronarias o metabólicas. En su estructura química, los AA- $\beta$  poseen un anillo aromático que es importante por ser el que les proporciona una actividad biológica definida. La mayoría de este tipo de agonistas se biotransforman y se inactivan rápidamente por efecto de las enzimas catecol-O-metil-transferasa tisulares, las cuales metilan los hidroxilos en su anillo aromático, tal es el caso del isoproterenol y la dobutamina (Baker *et al.*, 1983).

El uso de AA- $\beta$  en la nutrición animal ha generado resultados variables incluso dentro de las mismas especies. En bovinos alteran el tejido muscular donde promueven síntesis proteica y la hipertrofia celular. Lo anterior debido a que inhiben la proteólisis al mismo tiempo que motivan la lipólisis, razón por la cual se les denominan agentes repartidores de energía (Dominguez-Vara *et al.*, 2009). Los resultados de esta redirección del metabolismo energético reflejan un incremento en la masa muscular y reducción en la formación de grasa. En ovinos se han observado resultados similares, los cuales difieren en porcinos donde su potencial se ve reducido. Su uso en aves no ha sido bien definido, ya que se han requerido hasta cinco veces más la dosis usada en otras especies para obtener resultados tangibles. Se considera que esta variabilidad en las respuestas se debe a la forma tan exhaustiva en la que la especie ha sido seleccionada para una tasa de crecimiento rápida y al modo en que responden los AA- $\beta$  en estas especies. En el caso de ovinos su uso podría ser ventajoso,

ya que tienen la cualidad de que su selección genética no ha sido muy intensa, por lo que tienen mayor potencial para incrementar su tasa de crecimiento con la aplicación de algún promotor de crecimiento.

#### **4.6.2. Mecanismo de acción de los $\beta$ -agonistas adrenérgicos (AA- $\beta$ )**

El mecanismo de acción de los AA- $\beta$  aún no está bien definido, sin embargo, se conoce que actúan sobre los Receptores Adrenérgicos- $\beta$  (RA- $\beta$ ). Estos receptores que también son llamados adreno-receptores y se subdividen en dos grupos, según la sensibilidad que poseen, de tal manera que el grupo de receptores- $\beta$  exhiben mayor sensibilidad a la isoprenalina y menos a la noradrenalina, mientras que los receptores- $\alpha$  responden de manera inversa (Dominguez-Vara *et al.*, 2009).

Estos RA- $\beta$  son proteínas conformadas por 450 a 600 aminoácidos y tienen un peso molecular de 40 a 50 KDa, atraviesan la membrana celular y están conformados por tres asas intracelulares y tres extracelulares, donde se unen la adrenalina y noradrenalina. Estas hormonas, también llamadas “ligando”, son definidas como “agonistas” porque activan al receptor para producir una respuesta. Se conocen tres subtipos de RA- $\beta$ , los  $\beta$ 1,  $\beta$ 2 y  $\beta$ 3, los cuales han sido encontrados en la mayor parte de las células de mamíferos, sin embargo, su distribución y proporción varían en cada especie animal, incluso de un tejido a otro, ya que se han encontrado receptores  $\beta$ 1 en miocardio y en músculo liso intestinal. Los receptores  $\beta$ 2 se han encontrado en sistema nervioso central, en conducto bronquial y músculo uterino. En ovinos, los receptores  $\beta$ 1 y  $\beta$ 2 coexisten en el bíceps posterior y en el área del músculo LD (Domínguez *et al.*, 2009). Han propuesto que los RA- $\beta$  responden de manera diferente por presentar cierta especificidad establecida por algún componente. Los receptores  $\beta$ 1 responden mejor a la presencia del CZ y los receptores  $\beta$ 2 mejor a la presencia de CR.

Cuando se forma el complejo agonista-receptor se activa la proteína Gs, la cual a su vez activa a la adenilato ciclasa, enzima que produce el adenosin monofosfato cíclico (AMPc). Así, la activación de los RA- $\beta$  causa un aumento

en el AMPc, principal molécula de señalización intracelular que regula la actividad de la cinasa proteica A (Jhonson, 2000). Esta cinasa proteica A puede unirse al DNA para regular la transcripción del DNA a RNAm, asimismo, puede fosforilar a la hormona lipasa. La lipasa fosforilada es la forma activa que inicia la lipólisis.

Se tiene que considerar que el AMPc se une con la subunidad reguladora de la cinasa proteica A para liberar la subunidad catalítica que fosforila varias proteínas intracelulares. Estas proteínas tienen papeles funcionales vitales para una gran cantidad de procesos, que van desde permitir la entrada de  $Ca^{++}$  a la célula, hasta mediar la síntesis de proteínas.

Con la presencia en la sangre de AA- $\beta$ , se han observado modificaciones en el metabolismo, las cuales incluyen incremento en los niveles de hormonas como la somatotropina y tiroxina, así como disminución en la concentración de otras hormonas como insulina y el factor de crecimiento de la insulina tipo-1. También es posible encontrar incrementos en los niveles de noradrenalina aunque cabe mencionar que el trabajar con terbutalina y metaproterenol, demuestra que los niveles de glucosa en sangre no son afectados por la aplicación de los AA- $\beta$ .

Adicionalmente los AA- $\beta$  favorecen la reducción del contenido de grasa en la canal. No obstante, es importante señalar que el uso indebido de los AA- $\beta$  ha causado riesgos a la salud humana; la norma mexicana NOM-061-ZOO-1999 prohíbe el uso de algunos AA- $\beta$  con excepción del clorhidrato de zilpaterol (CZ) y el clorhidrato de ractopamina (CR), por ser fármacos con menor efecto potencial para generar bronco dilatación, vasoconstricción y aumento en la frecuencia cardíaca.

#### **4.6.3. Residuos en animales tratados con AA- $\beta$**

La información sobre efectos dañinos a la salud pública por el uso indebido de clenbuterol en Estados Unidos y la Unión Europea originó su prohibición, por lo cual está en controversia el uso de AA- $\beta$  en animales destinados a producir carne. En México, su prohibición fue en el año 2000 (NOM-061-ZOO-1999), no

obstante, en el periodo de 2002 a 2006, se registraron 192 brotes de intoxicación por este agonista y se presentaron dos o más con las siguientes manifestaciones: taquicardia, cefalea, palpitaciones, náuseas, ansiedad, angustia y malestar general. La dosis promotora de crecimiento óptima del clenbuterol en ganado bovino es aproximadamente de 0.8 µg/kg de peso sin embargo, como se ha visto que pueden mejorar aún más los rendimientos de la canal, no es raro que los productores administren de cinco hasta diez veces más la dosis mencionada. Se encontró que las concentraciones fueron más elevadas en el hígado que en el riñón, bilis y orina a partir del segundo día de retiro. Sin embargo, las concentraciones en coroides y retina fueron diez veces mayores que en el hígado. Dado el peso de estas estructuras, es difícil pensar que su acumulación a este nivel puede representar un peligro real. A pesar de ello, la acumulación en retina y coroides es útil, pues proporciona información relevante sobre el uso de AA-β, ya que la melanina es el componente ocular encargado de fijar los AA-β (Domínguez *et al.*, 2009). No obstante, es un error comparar clenbuterol con zilpaterol o ractopamina dado al potencial inductor de toxicidad tan distinto entre estos AA-β. De hecho, se hace énfasis que no se han encontrado datos de toxicidad debida a consumo de productos de origen animal tratados con ractopamina o zilpaterol. La situación de los residuos es distinta para Ractopamina y Zilpaterol. En ambos casos su eliminación es mucho más rápida, por la ausencia del cloro en el grupo cíclico, que facilita su biotransformación y excreción. Los residuos de clenbuterol en productos animales no deben superar concentraciones de 0.5 µg por kg en hígado y riñón, 0.1 µg por kg en músculo, los cuales son los límites máximos de residuos recomendados por el Comité para Productos Medicinales Veterinarios de la Agencia Europea de Evaluación del Medicamento. En el caso del clorhidrato de zilpaterol, los límites máximos de residuos para los diferentes tejidos comestibles son: hígado y riñón 30 ppb, tejido adiposo 20 ppb y músculo 1 ppb. Se han calculado las concentraciones más bajas, una vez retirado el agonista y para la ractopamina se requieren de 24-48 h y el zilpaterol de 48-72 h, dependiendo del país.

En los casos de clorhidrato de zilpaterol y ractopamina, cuando se usan adecuadamente en la producción animal, no deben representar riesgo a la

población que consume productos cárnicos de animales alimentados previamente con estos AA-β. Debido a sus propiedades químicas, estos compuestos se consideran de baja magnitud de riesgo asociado con el consumo de tejidos de animales tratados. No obstante, en diferentes trabajos realizados en ovinos y bovinos, se reportan niveles de residuos variables. Sin embargo, los resultados obtenidos pueden diferir de acuerdo con el AA-β empleado, dosis, unidad de producción y características de los animales empleados. Por lo tanto, es necesario desarrollar más investigación para conocer los factores que originan esta variación, de tal manera que nos permitan fundamentar el uso de los AA-β o su definitiva eliminación en la alimentación del ganado (Baker *et al.* (1983).

#### **4.6.4. El agonista adrenérgico - β Clorhidrato de Zilpaterol (CZ)**

Este agonista es un producto altamente higroscópico en su forma pura, como consecuencia se debe mantener bajo condiciones herméticas de ausencia de luz y a temperaturas por debajo de los 30 °C; su peso molecular es 297.8 y su fórmula molecular es C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>HCL. Su apariencia es blanco-amarillenta, altamente soluble en agua, pero no en cloroformo, etanol, acetona o tolueno, y prácticamente insoluble en otros solventes orgánicos.

El CZ presenta una rápida eliminación gracias a la ausencia del cloro en el grupo cíclico, lo que facilita su biotransformación y excreción (Baker *et al.*, 1983) afirma que la vida media del CZ es de 15.3 h con una eliminación de los residuos del 90%, por lo que se alcanza un 95% de eliminación de los residuos alrededor del segundo día de retiro. Por esto, el tiempo de retiro señalado es de 48 a 72 h, según el país donde se utilice.

El CZ es el ingrediente activo del producto comercial Zilmax<sup>®</sup> (Intervet/Schering-Plough Animal Health. México D.F., México), permitido para su uso en la alimentación animal. Se adiciona en dietas de finalización y se consume vía oral por los animales. En México y está aprobado oficialmente por la norma NOM-015-ZOO- 2002. En Estados Unidos fue aprobada bajo la norma NADA 141-258 por la FDA desde 2006. Sin embargo, la Comunidad Europea

no ha aprobado, dentro de sus países afiliados, su uso en la alimentación animal (Council of the European Communities, 1986).

#### **4.6.5. Respuesta productiva de bovinos y ovinos recibiendo clorhidrato de zilpaterol (CZ) durante el periodo de finalización en la engorda intensiva en corral**

Una de las variables más importante que determinan la productividad de los ovinos durante su periodo de engorda, es el consumo de materia seca del alimento, mismo que ha sido asociado a la ganancia de peso y eficiencia productiva, en este sentido Avendaño-Reyes et al. (2011), publicaron un estudio en ovejas de pelo, bajo condiciones de estrés por calor en el Valle de Mexicali y reportaron que el CZ no tuvo efecto ( $P>0.05$ ) en el consumo de materia seca; sin embargo; la ganancia diaria de peso ( $242$ , y  $304 \pm 10.3$  g/d), peso vivo final ( $38.4$ , y  $34.5 \pm 0.36$  kg) y eficiencia alimenticia fue mejorada ( $P\leq 0.002$ ) cuando los animales recibieron CZ en la dieta. El uso de los  $\beta$ -AA en la dieta, aparentemente incrementa la eficiencia de crecimiento al estimular la síntesis de la proteína del músculo esquelético, comparado con el tejido adiposo al tener un efecto negativo en la lipogénesis, lo que puede explicar los resultado reportados por Avendaño-Reyes et al. (2011). Por otra parte, Dávila-Ramírez et al. (2014) realizaron un experimento, durante 34 días, dividido en dos periodos de 17 días (0-17 y 18 -34 días) para evaluar el efecto de la adición de aceite de soya y CZ (10 mg/animal/día) y reportaron que no existió efecto de la interacción nivel de energía y el CZ, y que sólo durante los primeros 17 días de experimentación el mejora la ganancia diaria de peso y eficiencia alimenticia, así como algunas características de la canal como es la grasa contenida en riñones, corazón y peritoneo.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Sitio experimental

El experimento se desarrolló en la Unidad Metabólica de Pequeños Rumiantes en el Centro Universitario UAEM Temascaltepec, de la Universidad Autónoma del Estado de México, en Temascaltepec, al Sur poniente del Estado de México, México (Figura 2). La región presenta un clima templado subhúmedo con lluvias en verano de precipitación promedio de 1160 mm anuales y una temperatura media anual de 22 °C (García, 1987).



**Figura 2.** Unidad metabólica de pequeños rumiantes en el Centro Universitario UAEM Temascaltepec.

### 5.2. Animales, manejo y alimentación

Se utilizaron 6 corderos de lana cruzados (Suffolk X Hampshire) con peso inicial promedio de  $30.6 \pm 2.6$  kg y edad de 4 meses. Quince días antes de iniciar el experimento, los corderos fueron adaptados a la dieta basal experimental, desparasitados (0.5 ml de Ivermectina, (SanFer®, México D.F., México) y vitaminados (1.0 ml de Vigantol ADE, (Bayer®, México D.F., México). La dieta de adaptación fue la misma que se ofreció durante el desarrollo del experimento como dieta base. Para que los animales pudieran consumir la



dieta alta en grano (80% y 20% de forraje), fueron adaptados paulatinamente durante un periodo de 8 días, iniciando con proporciones (concentrado: forraje) de: 50:50, 60:40, 70:30 y 80:20, cada uno de ellos con una duración de 2 días. Los corderos fueron alojados de manera individual en unas jaulas metabólicas equipadas con comederos y bebederos automáticos. Su alimentación fue ofrecida en tres frecuencias: 8:00, 13:00 y 18:00hrs, con la finalidad de tener una fermentación ruminal homogénea, para evitar problemas metabólicos, como es la acidosis ruminal. Agua fresca fue ofrecida ad libitum, durante todo el experimento.

### 5.3. Tratamientos

Todos los animales, recibieron una dieta base (Cuadro 2), la cual integro los tres tratamientos experimentales: 1) dieta basal (grupo control), 2) dieta basal suplementada con 10 mg de CZ/animal/día y 3) dieta basal suplementada con 20 mg de CZ/animal/día (Zilmax®, Intervet/Schering-Plough Animal Health, México, D.F., México). Para asegurar el consumo de CZ, se elaboraron pellets, los cuales fueron depositados directamente en el hocico del animal con la ayuda de un tirabolos, mismo que fue suministrado diariamente, durante la primera frecuencia alimentaria del día (8:00 hrs), antes de ofrecer el alimento.

**Cuadro 2.** Dietas experimentales que recibieron los corderos durante la fase experimental.

| Concepto (%)                                    | Tratamientos |            |            |
|---|--------------|------------|------------|
|   | Control      | Zilmax (1) | Zilmax (2) |
| Maíz amarillo                                   | 37.5         | 37.5       | 37.5       |
| Pulido de arroz                                 | 10.0         | 10.0       | 10.0       |
| Granos secos de maíz de destilería con solubles | 10.0         | 10.0       | 10.0       |
| Cascarilla de soya                              | 8.0          | 8.0        | 8.0        |
| Melaza  | 8.0          | 8.0        | 8.0        |
| Pasta de canola                                 | 7.5          | 7.5        | 7.5        |
| Pasta de soya                                   | 7.0          | 7.0        | 7.0        |
| Salvado de trigo                                | 6.0          | 6.0        | 6.0        |
| Gluten de maíz                                  | 2.0          | 2.0        | 2.0        |
| Sal mineral cordero                             | 1.5          | 1.5        | 1.5        |
| Carbonato de calcio                             | 1.0          | 1.0        | 1.0        |
| Urea  | 0.5          | 0.5        | 0.5        |
| Sal común                                       | 0.5          | 0.5        | 0.5        |
| Grasa de sobrepaso                              | 0.5          | 0.5        | 0.5        |
| Clorhidrato de zilpaterol (mg/animal/día)       | 0.0          | 10.0       | 20.0       |

A esta dieta se le determinó en el laboratorio de nutrición animal del Centro Universitario UAEM Temascaltepec, su análisis químico proximal (AOAC, 1991) y fraccionamiento de fibras (Van Soest et al 1991; Anexo 2).

#### **5.4. Variables respuesta**

Consumo de materia seca: Se determinó mediante la sustracción de alimento ofrecido (tres frecuencias de alimentación) menos el rechazo.

Digestibilidad in vivo de los nutrientes (MS, MO, PC, EE, FDA, FDN): Se realizó la colección total de heces en cada periodo experimental durante los cinco días de muestreo, para tener una muestra compuesta de cada animal y tratamiento (Figura 3). Tanto a las muestras de alimento como las heces; se les determinó la concentración de nutrientes y así calcular la digestibilidad de acuerdo con Church (1998) utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Digestibilidad del nutriente: } \frac{\text{CMS (kg/día) x CNA (\%)} - \text{PTH (kg MS/día) x CNH (\%)}}{\text{CMS (kg/día) x CNA (\%)}}$$

Dónde:

CMS = Consumo de materia seca

CNA = Concentración del nutriente en el alimento

PTH = Producción total de heces

CNH = Concentración del nutriente en heces



**Figura 3.** Colección total de heces de cada periodo experimental.

Variables de fermentación ruminal: Durante el quinto día de muestreo, después de las cuatro horas postprandiales de la primera frecuencia de alimentación (8:00 hrs), una muestra de líquido ruminal de 50 ml, fue tomada a través del esófago con la ayuda de una bomba de vacío manual (Diamond) (Figura 4). Inmediatamente, fue registrado el *pH* (Potenciómetro OAKTON), (Figura 5) y 10 ml del líquido ruminal fueron acidificados con ácido clorhídrico al 20 % en una relación 4:1, estas muestras fueron congeladas para su análisis posterior. Los ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) se cuantificaron por cromatografía de gases (Claurus 1680, Perkin Elmer) según el procedimiento descrito por Erwin (1961), (Figura 6).



**Figura 4.** Muestreo de líquido ruminal con la ayuda de una bomba de vacío manual.



**Figura 5.** Medición de pH del líquido ruminal.



**Figura 6.** Acidificación de líquido ruminal para la determinación de AGV'S.

Producción de metano: La concentración de metano se estimó de manera indirecta utilizando la ecuación de regresión lineal Mills et al. (2003), la cual se describe a continuación:

$$\text{Metano (MJ/día)} = 5.93 + 0.92 * \text{CMS}$$

Dónde:

CMS = Consumo de materia seca

### 5.5. Diseño experimental

Las variables respuesta fueron analizadas de acuerdo a un diseño experimental de Cuadro Latino 3 x 3 repetido en espacio (Kaps y Lamberson 2009): Tres animales (B1, B2 y B3); tres periodos (P1, P2 y P3; cada uno de ellos tuvo una duración de 15 días, con 10 días de adaptación a la dieta y 5 de muestreo; (cuadro 4) y tres tratamientos (T0, T10 y T20; 0, 10 y 20 mg CZ/animal/día)

#### Modelo:

$$Y_{ij(k)m} = \mu + C_m + P(C)_{im} + B(C)_{jm} + T_{(k)} + E_{ij(k)m} \quad ijk = 1, \dots, r$$

Dónde:  $Y_{ij(k)m}$  = m-ésima variable respuesta en fila  $i$ , columna  $j$ , tratamiento  $k$ ,

$\mu$  = media general

$C_m$  = Efecto del m-ésimo cuadro ( $m=2$ )

$P(C)_{im}$  = Efecto del i-ésimo periodo dentro del m-ésimo cuadro ( $i=3$ )

$B(C)_{jm}$  = Efecto del j-ésimo Borrego dentro del m-ésimo cuadro ( $j=3$ )

$T_{(k)}$  = Efecto del k-ésimo tratamiento ( $k = 3$ )

$E_{ij(k)m}$  = Error aleatorio  $\sim NI(0, \alpha^2)$

**Cuadro 3.** Las fuentes de variabilidad y grados de libertad se presentan en la siguiente tabla.

| FUENTE                   | GRADOS DE LIBERTAD          |
|--------------------------|-----------------------------|
| Cuadro                   | $2-1= 1$                    |
| Periodo dentro de cuadro | $2(3-1)= 4$                 |
| Borrego dentro de cuadro | $2(3-1)= 4$                 |
| Tratamientos             | $3-1= 2$                    |
| Residual                 | $2(3-1)(3-2)+(2-1)(3-1)=18$ |
| Total                    | $2(3)^2-1= 17$              |

**Cuadro 4.** Arreglo de tratamiento de acuerdo al diseño de cuadro latino 3 x 3 repetido en espacio.

| Filas | Cuadro 1 |     |     | Filas | Cuadro 2 |     |     |
|-------|----------|-----|-----|-------|----------|-----|-----|
|       | B1       | B2  | B3  |       | B1       | B2  | B3  |
| P1    | T0       | T10 | T20 | P1    | T0       | T10 | T20 |
| P2    | T20      | T0  | T10 | P2    | T20      | T0  | T10 |
| P3    | T10      | T20 | T0  | P3    | T10      | T20 | T0  |

Dónde:

P1, P2, P3= Periodo

B1, B2, B3= Borrego

T0= dieta basal (grupo control),

T10=dieta basal suplementada con 10 mg de CZ/animal/día

T20=dieta basal suplementada con 20 mg de CZ/animal/día

## 5.6. Análisis estadístico

Todos los datos experimentales fueron analizados mediante análisis de varianza (Steel y Torrie; 1987) mediante el procedimiento GLM de SAS (2001), para la comparación de medias se utilizó el LSMEANS, ajustado por Tukey (SAS, 2002).

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. Variables productivas

No se encontró efecto ( $P > 0.05$ ) del CZ, sobre la ganancia diaria de peso, consumo de materia seca y eficiencia alimenticia (Cuadro 5), estos resultados coinciden con Dávila-Ramírez, et al. (2014), donde al utilizar una dosis de 10 mg de CZ, la respuesta productiva no fue modificada.

**Cuadro 5.** Comportamiento productivo en ovinos de lana, suplementados con diferentes niveles de clorhidrato de zilpaterol (CZ).

| Concepto                          | CZ, mg/d |       |       | CME   | P-valor <sup>2</sup> |
|-----------------------------------|----------|-------|-------|-------|----------------------|
|                                   | 0        | 10    | 20    |       |                      |
| Peso vivo inicial en el día 0, kg | 33.45    | 33.50 | 33.08 | 0.191 | 0.62                 |
| GDP, kg/d                         | 0.127    | 0.133 | 0.177 | 0.023 | 0.64                 |
| CMS, kg/d                         | 1.338    | 1.371 | 1.404 | 0.049 | 0.86                 |
| E:A                               | 0.109    | 0.090 | 0.133 | 0.062 | 0.67                 |

CME = Cuadrado medio del error,  $P > 0.05$ , GDP = Ganancia diaria de peso, CMS = Consumo de materia seca, E: A = Eficiencia alimenticia.

El consumo voluntario en rumiantes es un fenómeno complejo, debido a que en el intervienen diversos factores como son los controladores a largo plazo donde se incluyen el estado fisiológico, balance de energía del animal, temperatura ambiental, humedad relativa, fotoperiodo, nivel de producción, etc.; así como los controladores a corto plazo que son aspectos de fisiología digestiva (distensión del retículo o saco craneal del rumen), osmolaridad de la digesta, concentración de los ácidos grasos volátiles (acetato en la digesta retículo-rumen) o bien propionato en la vena ruminal e hígado, así mismo la participación de algunas hormonas como la insulina, glucagón, gastrina y colecistoquinina (Grovn, 1988). De manera específica cuando se trata de entender el comportamiento del consumo en animales que consumen dietas ricas en concentrados, se tendría que pensar en la intervención de controladores a mediano plazo como son la concentración de ácidos grasos

volátiles y la densidad de la digesta; en este sentido, el consumo de materia seca en los animales, es uno de los factores más importantes que determina su respuesta productiva (Church, 1990); sin embargo, debemos de tomar en cuenta la posible relación que pudiera tener con la ganancia de peso, ya que no necesariamente un animal que come más será el más eficiente, por la sencilla razón de que a mayor peso corporal, mayor será el consumo, pero también tendrá mayor gasto energético para mantenimiento de sus funciones vitales. De manera particular los resultados encontrados en la presente investigación coinciden con los reportados por Carlos *et al.* (2010) donde no encontraron efecto del CZ. Por otra parte otros estudios (Avendaño-Reyes *et al.*, 2006; Beckett *et al.*, 2009; Montgomery *et al.*, 2009; Baxa *et al.*, 2010) que han demostrado que el CZ mejora la ganancia diaria de peso y la eficiencia alimenticia durante la finalización de ganado bovino en corral. Sin embargo, cuando se trata de ovinos, el efecto del CZ, no ha sido consistente, mientras que en algunos reportes (Avendaño-Reyes *et al.*, 2011; López-Carlos 2011, 2012) se ha mejorado el peso vivo final, ganancia diaria de peso y eficiencia alimenticia; en otros sólo efectos parciales (Estrada-Angúlo *et al.*, 2008; Mondragón *et al.*, 2010) e incluso sin efecto (Macías-Cruz *et al.*, 2010). La administración beta adrenérgicos aparentemente mejora la eficiencia de crecimiento, estimulando la síntesis de tejido esquelético, disminuyendo la lipogénesis, esto puede resultar cierto, cuando se trata de animales intactos como son las pruebas típicas de comportamiento.

Otros autores coinciden con lo anteriormente expuesto y mencionan que el efecto más significativo del suministro del clorhidrato zilpaterol en la finalización de ovinos y bovinos alimentados con dietas altas en grano, es el dramático incremento de la masa muscular esquelética o el área seccional de los músculos individuales, como es el caso del Longissimus dorsi y bíceps, debido a incremento particular de células satelitales y la subsecuente fusión a la fuente de DNA para soportar el rápido cambio en la masa muscular, efectos similares a los hipotetizados con los implantes esteroidales. Sin embargo, la mayoría de los trabajos previos al presente sugieren que durante las tres a cinco semanas de suministro de los  $\beta$ -AA se estimula la hipertrofia del músculo, sin cambiar el número de núcleos de las células. Un constante material de desoxi-



ribonucleico (DNA) (mismo número de núcleos) unidos con rápidos cambios en la masa muscular y consecuentemente acumulación de proteína en disminución con la concentración de DNA en los músculos individuales en los animales dosificados con  $\beta$ -AA ha sido el resultado respecto a los animales no tratados, entonces la acumulación de DNA durante rápidos periodos de hipertrofia muscular no ocurre debido a la alimentación de  $\beta$ -AA, muchos investigadores se han enfocado sobre el acoplamiento directo de  $\beta$ -AA, a sus receptores (Beta-adrenérgicos receptores; BAR), afectando tanto la tasa de síntesis de proteína, su degradación o ambos. El musculo esquelético en el ganado bovino ha demostrado abundantes números de BAR, sobre la superficie celular, investigaciones previas han demostrado que muchos BAA, son capaces de incrementar la síntesis de proteína y disminuir su catabolismo. El efecto neto de estos cambios son dramáticos sobre el musculo esquelético, por lo tanto los BAA causan que con los núcleos existentes dentro de las células del musculo esquelético se realice con mayor eficiencia la hipertrofia celular haciendo más eficiente la acumulación neta del musculo sin la necesidad de apoyo adicional de DNA a partir de células satelitales. Este efecto esta dado debido al acoplamiento directo del BAA a sus receptores sobre el musculo esquelético haciendo más eficientes las rutas bioquímicas responsables de la hipertrofia celular.

## **6.2. Variables de fermentación ruminal**

La fermentación ruminal del alimento en el rumen es el resultado de la actividad metabólica de los microorganismos presentes en el rumen. En los rumiantes, la degradación de los sustratos moleculares por la acción de bacterias y otros microorganismos se realiza por una hidrólisis enzimática igual que en la digestión glandular; la diferencia mayor es que las enzimas digestivas en la fermentación son de origen microbiano, por lo que se le denomina (digestión aloenzimática). Esta digestión fermentativa es más lenta y los sustratos son alterados en mayor grado que en la digestión glandular. Además la fermentación ocurre en un medio anaerobio. La digestión enzimática puede ocurrir en solo dos sitios del tracto gastrointestinal. Estos sitios son el retículo y

rumen que son compartimentos llamados preestómagos donde ocurre una prefermentación pregástrica. Sin embargo, los preestómagos carecen de enzimas propias para degradar los alimentos ingeridos por el rumiante, es en esta cámara que se realiza la mayor parte de la digestión del alimento debido a la fermentación microbiana principalmente por hidrólisis y oxidación anaeróbica (Van y Regueiro, 2008). Al constituir un sistema abierto y continuo, el rumen aporta el volumen y el tiempo de retención necesario para que el alimento ingerido por el animal sea degradado y fermentado por los microorganismos ruminales. Este ambiente acuoso proporciona las condiciones precisas para que las interacciones entre las actividades microbianas ruminales, las enzimas producidas por los mismos microorganismos y los nutrientes, sean óptimas (Yokoyama y Johnson, 1988). Los microorganismos ruminales se encargan de degradar los carbohidratos y las proteínas de forma total y parcial a monómeros para su fermentación o absorción (Wallace y Cotta, 1998; Erasmus *et al.*, 1994; Hoover y Stokes, 1991) con el objetivo principal de obtener energía y proteína microbiana (Dewhurst, *et al.*, 2000; Stern y Hoover, 1979). En este sentido en el cuadro 6, se presentan los resultados obtenidos en algunas características de la fermentación ruminal en ovinos recibiendo tres niveles de clorhidrato de zilpaterol.

**Cuadro 6.** Características de fermentación ruminal en ovinos de lana suplementados con diferentes niveles de clorhidrato de zilpaterol (CZ).

| Concepto        | CZ, mg/d |        |        | CME   | P-valor <sup>2</sup> |
|-----------------|----------|--------|--------|-------|----------------------|
|                 | 0        | 10     | 20     |       |                      |
| pH              | 6.433    | 6.566  | 6.483  | 0.073 | 0.75                 |
| CH <sub>4</sub> | 9.168    | 9.393  | 9.618  | 0.341 | 0.86                 |
| Acético         | 49.448   | 44.468 | 39.320 | 2.612 | 0.71                 |
| Propiónico      | 24.009   | 24.731 | 21.339 | 2.589 | 0.32                 |
| Butírico        | 0.884    | 0.891  | 1.002  | 1.910 | 0.74                 |
| A/P             | 70.489   | 69.723 | 67.676 | 0.040 | 0.44                 |

CME = Cuadrado Medio del Error, P > 0.05, CH<sub>4</sub>= Metano, A/P= relación acético- propiónico.

En ninguna variable se encontró efecto del beta adrenérgico, lo cual indica que este aditivo no trabaja a nivel de rumen, sino que tiene un efecto directo a nivel

tisular tal y como lo indica su mecanismo de acción, donde se sabe que actúan sobre los receptores adrenérgicos- $\beta$  (RA- $\beta$ ) (Mersmann, 1998). Estos receptores que también son llamados adreno-receptores, los cuales se subdividen en dos grupos, según la sensibilidad que poseen, de tal manera que el grupo de receptores- $\beta$  exhiben mayor sensibilidad a la isoprenalina y menos a la noradrenalina, mientras que los receptores- $\alpha$  responden de manera inversa (Ahlquist, 1984), por lo tanto bajo un razonamiento lógico cuando existe una saturación de los receptores adrenérgicos como pudo haber sucedido con la dosis de 20 mg/animal/día, se inhibe la respuesta favorable hacia la hipertrofia del músculo esquelético y los animales se comportan inferiores a los dosis óptima e inclusive iguales que el grupo control, tal y como sucedió en el presente experimento. El mecanismo de acción de un agonista beta receptor in vivo puede ser extremadamente complicado pues están involucrados eventos de tipo hormonal y fisiológicos en los que participan numerosos tejidos, para el caso particular de los ovinos, se menciona que donde existe mayor actividad de estos receptores agonistas es en el músculo longissimus dorsi y bíceps posterior (Avendaño-Reyes et al., 2011). Por otra parte, existen estudios (Aguilera-Soto et al., 2008 y López-Carlos et al., 2010) donde reportaron que la inclusión de clorhidrato de zilpaterol durante los últimos 28 o 30 días de su finalización en el corral de engorda no se afectó el crecimiento de los corderos tanto de pelo, como sus cruas con ovinos de lana. La discrepancia entre los estudios refleja la complejidad del mecanismo de acción del aditivo, por lo que se piensa que muchos factores están relacionados con la respuesta como es la dosis utilizada, la raza, edad, sexo, manejo, dieta, condiciones del ambiente; entre otros (Moody et al., 2000).

Por otra parte, Los rumiantes son responsables de alrededor del 23 % de la producción de metano global. Esto es una consecuencia inevitable de la fermentación de los carbohidratos en el rumen. El gas se emite a la atmósfera mediante la eructación y la cantidad liberada depende de la cantidad del alimento consumido y de la composición de la ración, la que es menor en dietas bajas en fibra (Galindo et al., 2011). Más del 10 % de la energía bruta en el alimento se pierde en forma de metano. Además, la producción de metano por los microorganismos del rumen es estimada en 300 – 600 litros al año en

ganado adulto (Jouany, 1994). Este gas es uno de los que más contribuyen al efecto invernadero y es responsable del 18 % del fenómeno. Por estas razones, muchas investigaciones se dirigen a encontrar vías para reducir la emisión de metano por los rumiantes (Johnson *et al.*, 2000).

### 6.3. Digestibilidad de los nutrientes

El término digestibilidad, se refiere a la cantidad de alimento retenido después de su paso por el aparato gastrointestinal del animal y que se supone que dichos nutrientes son absorbidos y metabolizados para fines de mantenimiento y producción del animal, de manera general se considera que a medida que se incrementa la digestibilidad de un alimento, teóricamente se dispone de mayor cantidad de nutrientes para fines productivos. En este sentido, cuando se realiza investigación donde se evalúa el efecto de los beta adrenérgicos, los resultados han demostrado que se favorecen las variables productivas (Macías-Cruz *et al.*, 2010), efecto positivo que ha sido atribuido a los cambios en la síntesis y tasa de degradación tanto de las proteínas como de los lípidos (Beermann, 2002). En la presente investigación no se encontró efecto del clorhidrato de zilpaterol sobre la digestibilidad de los nutrientes (Cuadro 7), lo que indica que el reparto de los nutrientes es a nivel tisular.

**Cuadro 7.** Digestibilidad de los nutrientes en corderos de lana suplementados con diferentes niveles de clorhidrato de zilpaterol (CZ).

| Concepto | CZ, mg/d |        |        | CME   | P-valor <sup>2</sup> |
|----------|----------|--------|--------|-------|----------------------|
|          | 0        | 10     | 20     |       |                      |
| MS       | 70.489   | 69.723 | 67.676 | 1.120 | 0.58                 |
| MO       | 73.105   | 71.342 | 70.635 | 0.972 | 0.58                 |
| PC       | 72.458   | 73.377 | 72.491 | 1.383 | 0.95                 |
| EE       | 74.679   | 71.827 | 73.309 | 0.785 | 0.37                 |
| FDN      | 40.492   | 40.301 | 38.912 | 2.799 | 0.97                 |
| FDA      | 73.105   | 71.342 | 70.635 | 0.972 | 0.58                 |

CME = Cuadrado Medio del Error, P > 0.05, MS= Materia seca, MO= Materia orgánica, PC= Proteína cruda, EE= Extracto etéreo, FDN Fibra detergente neutro, FDA= Fibra detergente ácido.

A pesar de que se menciona que el acoplamiento de los beta receptores encontrados a lo largo del tracto gastrointestinal, podría afectar la motilidad y las funciones secretorias del borde de cepillo del intestino delgado (McIntyre y Thompson, 1992), en el presente estudio no se pudo apoyar esta teoría ya que la digestibilidad de los nutrientes fue la misma tanto para el control como para los tratamientos. Por otra parte se ha reportado que la actividad microbiana puede ser estimulada por la presencia de raptopamina (Walker y Drouillard, 2010), por lo que se podría pensar que los beta adrenérgicos agonistas pueden influenciar directamente la población bacteriana afectando la digestión ruminal y digestibilidad de los nutrientes, sin embargo estas hipótesis no pudieron ser apoyadas con los resultados encontrados en la presente investigación, los cuales coinciden con el reporte de Macías-Cruz et al., 2013, donde encontró que el clorhidrato de zilpaterol mejoró la respuesta productiva de ovinos, como efecto de la mejor repartición de los nutrientes a nivel tisular; más que, por una mejora en la digestibilidad de los nutrientes. Pocos estudios han examinado el efecto de los beta adrenérgicos agonistas sobre la digestibilidad de los nutrientes y los parámetros de fermentación ruminal y la presente investigación discrepa de previos estudios (McIntyre y Thompson, 1992) mencionan que la catecolaminas afectan la microflora ruminal y pueden disminuir la motilidad del aparato digestivo, lo cual en teoría resultaría en una mejora de la digestión de los nutrientes, por el mayor tiempo de retención a nivel ruminal.

## **VII. CONCLUSIÓN**

El clorhidrato de zilpaterol no tuvo efecto en la respuesta productiva, parámetros de fermentación ruminal y digestibilidad de los nutrientes de una dieta típica de ovinos engordados en corral durante su etapa de finalización.

## **VIII. FINANCIAMIENTO**

La presente investigación estuvo financiada por el proyecto “REDES DE INVESTIGACIÓN: USO DE PROMOTORES DE CRECIMIENTO EN OVINOS DE PELO” SEP-PROMEP 103.5/2013. Cuyo responsable es el Dr. Rolando Rojo Rubio.

## IX. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- A Summary of Methods and a Suggested List of Equipment for the Determination of Moisture. 1957. Central Scientific Company. Chicago, Illinois.
- A. O. A. C. 1975. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 12th Edition. Published by the Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C.
- Aguilera-Soto, J. I., R. G., Ramírez, C. F. Arechiga, F. Mendez- Llorente, M. A. López-Carlos, J. M. Silva-Ramos, R. M. Rincón-Delgado, and F. M. Duran-Roldan. 2008. Zilpaterol hydrochloride on performance and sperm quality of lambs fed wet brewers grain. *J. Appl. Anim. Res.* 34:17–21.
- Akin, D. E. and Borneman, S. W., 1990. Role of rumen gugi in fiber degradation. *J. Dairy Sci.* 73: 3023-3032 pp.
- Avendaño-Reyes, L., U. Macías-Cruz, F. D. Álvarez-Valenzuela, E. Águila-Tepato, N. G. Torrentera-Olivera, and S. A. Soto-Navarro. 2011. Effects of zilpaterol hydrochloride on growth performance, carcass characteristics, and wholesale cut yield of hair-breed ewe lambs consuming feedlot diets under moderate environmental conditions. *J. Anim. Sci.* 89:4188–4194.
- Avendaño-Reyes, L., V. Torres-Rodríguez, F. J. Meraz-Murillo, C. Pérez-Linares, F. Figueroa-Saavedra, and P. H. Robinson. 2006. Effects of two  $\beta$ -adrenergic agonists on finishing performance, carcass characteristics, and meat quality of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 84:3259–3265.
- Baker, P. K, Kiernan J. A., 1983. Phenylethanolamine derivatives and acid addition salts thereof for enhancing the growth rate of meat producing animals and improving the efficiency of feed utilization thereby. *Us patent #4, 404, 222.*
- Baxa, T. J., J. P. Hutcheson, M. F. Miller, J. C. Brooks, W. T. Nichols, M. N. Streeter, D. A. Yates, and B. J. Johnson. 2010. Additive effects of a steroidal implant and zilpaterol hydrochloride on feedlot performance, carcass characteristics, and skeletal muscle messenger ribonucleic acid abundance in finishing steers. *J. Anim. Sci.* 88:330–337.
- Beckett, J. L., R. J. Delmore, G. C. Duff, D. A. Yates, D. M. Allen, T. E. Lawrence, and N. Elam. 2009. Effects of zilpaterol hydrochloride on growth rates, feed conversion, and carcass traits in calf-fed Holstein steers. *J. Anim. Sci.* 87:4092–4100.
- Beermann, D. H. 2002. Beta-adrenergic receptor agonist modulation of skeletal muscle growth. *J. Anim. Sci.* 80:E18–E23.



- Bloomfield, R. A., Komer, G. E., Wilson, P. R. y Muhrer, E. M., 1966. Alkaline buffering capacity of rumen fluid. *J. Anim. Sci.* 25: 1276. Abstract.
- Bondi, A. A., 1994. *Nutrición Animal*, editorial Acribia, Zaragoza, España. 166 p
- Bonhome, A., 1988. Endo 1, 4-b -glucanase and Endo-1, 4, 4-b -Xilanase of the ciliate *Epidinium ecaudatum* free of cellulolytic and hemicellulolytic bacteria. *Jpn. J. Vet. Sci.* 50:543-547 pp.
- Church, D. C. 1974. *Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes*. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- Church, D. C., 1988. *The ruminant animal digestive physiology and nutrition*. Prentice hall, Englewood Cliffs, New Jersey USA. 564 p.
- Coleman, G. S., 1979. El papel de los protozoarios en el metabolismo de rumiantes alimentados con productos tropicales. *Prod. Anim. Trop.* 4:204-219 pp.
- Coleman, G. S., Laurie, I. J. and J. Bairey, E. J., 1977. The cultivation of the rumen ciliate *Entodinium bursa* in the presence of *Entodinium caudatum*. *J. Gen. Microbiol.* 101: 253-258 pp.
- Counotte, G. H. M., Th van't Klooster, A. and Van Der Kuilen, J., 1979. An analysis of the buffer system in the rumen of dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 49: 1536-1544 pp.
- Crater, A. R., Barboza, S. P., Forster, J. R., 2007. Regulation of rumen fermentation during seasonal fluctuations in food intake of muskoxen. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 146 :233–241 pp.
- Czerkawski, J. W., 1986. *An introduction to rumen studies*. Pergamon Press. 51-82 pp.
- Dewhurst, R. J., Davies, D. R., Merry, R. J., 2000. Microbial protein supply from the rumen. *Animal Feed Science and Technology.* 85 :( 1-2), 1-21 pp.
- Dominguez-Vara I.A. Mondragón A.J., González R. M., Salazar G.F., Bórquez G. J. L., Aragón M. A. 1999. Los B-agonistas adrenérgicos como modificadores metabólicos y su efecto en la producción, calidad e inocuidad de la carne de bovinos y ovinos: una revision. *Ciencia ergo sum.* Vol. 16-3.
- Duckett, S. K y F. N. Owens. 1997. Effects of implants on performance and carcass traits in feedlot steers and heifers. P/957, May, 1997. *Oklahoma Agric. Exp. Sta., Oklahoma State University, Stillwater, OK.*
- Easley, J.F., J.t. McC all, G.K. Davis and R.L. Shirley. 1965. *Analytical Methods for Feeds and tissues*. Laboratory Nutrition. Department of Animal Science. University of Florida, EUA.

- Erasmus, L. P., Botha, P. M., Cruywagen, C. W., Maissner., H. H., 1994. Amino acid profile and intestinal digestibility in dairy cows of rumen-undegradable protein from various feedstuffs. *Journal of Dairy Science*. 77:(2), 541-551 pp.
- Erwin, E.S., G.J. Marco, E.M. Emery. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44: 1768-1776.
- Estrada-Angulo, A., A. Barreras-Serrano, G. Contreras, J. F. Obregón, J. C. Robles-Estrada, A. Plascencia, and R. A. Zinn. 2008. Influence of level of zilpaterol chlorhydrate supplementation on growth performance and carcass characteristics of feedlot lambs. *Small Rumin. Res.* 80:107–110.
- Fibrous Feeds. I. Preparation of Fiber Residues of Low Nitrogen Content. *Assoc. Off. Agr. Chem Jour.* 46:825-829.
- Fischer, J. M., Buchanan-Smith, G. J., Campbell, C., Grieve, G. D. y Allen, B. O., 1994. Effects of forage particle size and long hay for cows fed total mixed rations based on alfalfa and corn. *J. Dairy Sci.* 77: 217-229 pp.
- Galindo, J., González, N., Sosa, A., Ruiz, T., Torres, V., Aldana, A., Díaz, H., Moreira, o., Sarduy, L., Noda, A., 2011. Efecto del *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray (Boton de oro) en la población de protozoos y metanógenos ruminales en condiciones in vitro. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 33 San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.
- Giger-Reverdin, S., Duvaux-Ponter, C., Sauvant, D., Martin, O., Prado do, N. I. y Muller. R., 2002. Intrinsic buffer capacity of feedstuffs. *Anim. Feed Sci. Techn.* 96:83-102 pp.
- Goering H.K. and P.J. Van Soest. 1972. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and some (Applications). *Agricultural Handbook No. 379.* Agricultural Research Service. United States Department of Agriculture. pp 20.
- Hoover, W. H., Stokes, S. R., 1991. Balancing carbohydrates and protein for optimum rumen microbial yield. *Journal of Dairy Science.* 74 :( 10), 3630-3644 pp.
- Hungate, R. E., 1984. Challenges in rumen microbiology Grovum and A. Dobson (Ed.). *Control and Methos Proc. Of the 6th Int. Symp. On Ruminant Physica.*
- Ivañez, H. M. 1980. *Manual de Procedimientos de Bioquímica Clínica.* Instituto Politécnico Nacional pp 167.

- J. L. Dávila-Ramírez, U. Macías-Cruz, N. G. Torrentera-Olivera, H. González-Ríos, S. A. Soto Navarro, R. Rojo-Rubio, and L. Avendaño-Reyes. 2014. Effects of zilpaterol hydrochloride and soybean oil supplementation on feedlot performance and carcass characteristics of hair-breed ram lambs under heat stress conditions. *J. Anim. Sci.* 92:1-9.
- Jensen, A. E., and Hammond, D. M., 1964. A morphological study of trichomonads and related flagellates from the bovine digestive tract. *J. Protozool.* 11:386-394 pp.
- Johnson, D. E., Johnson, K. A., Ward, G. M., Branine, M. E., 2000. Ruminants and other animals, chapter 8. In: *Atmospheric Methane: its Role in the Global Environment*. Ed. M. A. K. Khalil. Springer – Verlag, Berlin Heidelberg Germany, 112 p.
- Jouany, J. P., 1994. Methods of manipulating the microbial metabolism in the rumen. *Ann. Zootech.* 43:49-52 pp.
- Kaps Miroslav, Lamberson William. 2009. *Biostatistics for animal science an introductory text*, 2<sup>nd</sup> edition 349-345 pp.
- Kebreab. E, J. Dijkstra, A. Bannink, W. J. J. Gerrits and J. Trance, 2000. Nutrient digestion and utilization in farm animals, modeling approaches. 299-303pp.
- Krause, K. M., and Oetzel, R. G., 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Animal Feed Science and Technology* 126: 215–236 pp.
- Leng, R. A., 1989. Restricciones metabólicas para la utilización de la caña de azúcar y sus subproductos para el crecimiento y producción de leche en rumiantes mayores. Colección Geplacea, Serie Diversificación PNND. Grupo de países Latinoamericanos y del Caribe exportadores de azúcar. 23-57 pp.
- López-Carlos, M. A., R. G. Ramírez, J. I. Aguilera-Soto, A. Plascencia, H. Rodríguez, C. F. Aréchiga, R. M. Rincón, C. A. Medina-Flores, and H. Gutiérrez-Bañuelos. 2011. Effect of two beta adrenergic agonists and feeding duration on feedlot performance and carcass characteristics of finishing lambs. *Livest. Sci.* 138:251–258.
- López-Carlos, M. A., R. G. Ramírez, J. I. Aguilera-Soto, C. F. Aréchiga, F. Méndez-Llorente, H. Rodríguez, and J. M. Silva. 2010. Effect of ractopamine hydrochloride and zilpaterol hydrochloride on growth, diet digestibility, intake and carcass characteristics of feedlot lambs. *Livest. Sci.* 131:23–30.

- López-Carlos, M. A., R. G. Ramírez, J. I. Aguilera-Soto, H. Rodríguez, C. F. Aréchiga, F. Méndez-Llorente, J. J. Chavez, C. A. Medina, and J. A. Silva. 2012. Effect of the administration program of 2  $\beta$ -adrenergic agonists on growth performance and carcass characteristics of feedlot ram lambs. *J. Anim. Sci.* 90:1521–1531
- Macías-Cruz, U., F. D. Álvarez-Valenzuela, N. G. Torrentera- Olivera, J. V. Velázquez-Morales, A. Correa-Calderón, and L. Avendaño-Reyes. 2010. Effect of zilpaterol hydrochloride on feedlot performance and carcass characteristics of ewe lambs during heat-stress conditions. *Anim. Prod. Sci.* 50:983–989.
- McAllan, A. B., Smith, R. H., 1983. Estimation of flows of organic matter and nitrogen components in postruminal digesta and effects of level of dietary intake and physical form of protein supplement on such estimates. *Br J. Nutr.* 49:(1), 119-127 pp.
- McCullough, H., 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clin. Chem. Acta.* 17:297-304.
- McDonald, P. R. A. Edwards and J. F. D. Greenhalgh. 1987. *Animal Nutrition*. 4Th Edition, Longman Inc., New York.
- McIntyre, A. S., and D. G. Thompson. 1992. Review article: Adrenergic control of motor and secretory function in the gastrointestinal tract. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 6:125–142.
- Melgarejo, L. G. 1995. Modificación a la técnica fibra detergente neutro de Van Soest (1991), sustituyendo a la Alfa-amilasa A-3306 por la Alfa-amilasa del *Bacillus licheniformis* (Takaterm<sup>®</sup>) en análisis de alimentos ricos en almidón. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Mersmann, H. J. 1998. Overview of the effects of beta-adrenergic receptor agonists on animal growth including mechanisms of action. *J. Anim. Sci.* 76:160–172.
- Mondragón, J., I. A. Domínguez-Vara, J. M. Pinos-Rodríguez, M. González, J. L. Bórquez, A. Domínguez, and M. L. Mejía. 2010. Effects of feed supplementation of zilpaterol hydrochloride on growth performance and carcass traits of finishing lambs. *ActaAgric. Scand., Sect. A* 60:47–52.
- Montgomery, G. L., C. R. Krehbiel, J. J. Cranston, D. A. Yates, J. P. Hutcheson, W. T. Nichols, M. N. Streeter, D. T. Bechtol, E. Johnson, T. TerHune, and T. H. Montgomery. 2009. Dietary zilpaterol hydrochloride. I. Feedlot performance and carcass traits of steers and heifers. *J. Anim. Sci.* 87:1374–1383.

- Moody, D. E., D. L. Hancock, and D. B. Anderson. 2000. Phenethanolamine repartitioning agents. Pages 65–95 in Farm Animal Metabolism and Nutrition. J. P. F. D'Mello, ed. CAB Int., New York, NY.
- Orpin, C. G. and Joblin, N. K., 1988. The rumen anaerobic fungi. In: The rumen microbial ecosystem Hobson, (P.N.) (Ed.). Elsevier Applied Science. New York. USA. 129-150 pp.
- Orpin, C. G., 1975. Studies of the rumen flagellate *Neocallimastix frontalis*. J. Gen. Microbiol. 91:249-262 pp.
- Plata, F. X. 1992. Efecto de un probiótico *Saccharomyces cerevisiae* en la fermentación ruminal, digestibilidad *In situ* y el consumo en bovinos alimentados con tres niveles de paja de avena. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Ganadería. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. México.
- Preston, T. R. y Leng, A. R., 1989. Ajustando los sistemas de producción pecuaria a los recursos disponibles: Aspectos básicos del nuevo enfoque sobre la nutrición de rumiantes en el trópico. Cali, Colombia. 314 p.
- SAS Institute. 2000. SAS User's Guide: Statistics. Ver.5. SAS Institute. Cary, N.C. USA. 956 p.
- SAS., Institute. 2001. SAS User's Guide: Statistics. Ver.5. SAS Institute. Cary, N.C. USA. 956 p.
- Shirley, R.L., J.F. Easley, J.P. Feaster, C.B. Ammerman and J.E. Moore. 1973. Equipment and Procedures. Nutrition Laboratory. Department of Animal Science. University of Florida, EUA.
- Steel, R.G.D., Torrie, J.H. 1980. Principles and procedures of Statistics, 2<sup>nd</sup> ed. McGraw-hill International, Nex York, NY, USA.
- Stern, M. D., Hoover, H. W., 1979. Methods for determining and factors affecting rumen microbial protein synthesis: a review. Journal of Animal Science 49 :( 6), 1590-1603 pp.
- Ulises Macías-Cruz, Leonel Avendaño-Reyes, Francisco D. Álvarez-Valenzuela, Noemí G. Torrentera-Olivera, C. Meza-Herrera, Miguel Mellado- Bosque, Abelardo Correa-Calderón. 2013. Crecimiento y características de canal en corderas. Tratadas con clorhidrato de zilpaterol durante primavera y verano. Rev. Mex. 4(1):1-12
- Valdez, R. E, Álvarez, J.F., Ferreiro, M. H., Guerra, F., López, J., Priego, A., Blackburn, H. T., Leng, A. R. and Preston, R. T., 1977. Rumen functions in cattle given sugar cane. Trop. Anim. Prod. 2:260-272 pp.

- Van Soest, P.J. 1963. Use of Detergents in the Analysis of Fibrous Feeds. II A Rapid Method for the Detergmination of Fiber and Lignin. Assoc. Off. Agr. Chem Jour. 46:829-835.
- Van. L. E y Regueiro. M., 2008 Digestión en retículo-rumen. Facultad de Agronomía Universidad de la Republica. Departamento de Produccion Animal y Pasturas Curso de Anatomía y Fisiología Animal.
- Villalobos, G. C., González, V. E., Ortega, S. J. A., 2000. Técnicas para estimar la degradación de proteína y materia orgánica en el rumen y su importancia en rumiantes en pastoreo, Técnica Pecuaria en México 38:(2), 119–134 pp.
- Walker, D. K., and J. S. Drouillard. 2010. Effects of ractopami nehydrochloride are not confined to tissue: Evidence for direct effects of ractopamine hydrochloride supplementation on fermentation by ruminal microorganisms. J. Anim. Sci. 88:697–706.
- Wallace, J., 1993. Microbiología del rumen. Memoria del Curso Internacional Avanzado de Nutrición de Rumiantes. Centro de Ganadería, Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 62-67 pp.
- Wallace, R. J. and Cotta, A. M., 1988. Metabolism of nitrogen-containing compounds. In: Hobson P.H. (Ed.). The rumen microbial ecosystem. Elsevier Aplied Science. London, U. K. 217-250 pp.
- Weimer, P. J., 1996. Why don't ruminal bacteria digest cellulose faster. J. Dairy Sci. 79:1496-1502 pp.
- Williams, A., G. and Coleman, S. G., 1988. The rumen protozoa. In: the rumen microbial ecosystem. Elsevier Applied Science. London and New York. 77-128 pp
- Williams, A.G. and S.E. Withers. 1991. Effect of ciliate protozoa on the activity of polysaccharide-degrading enzymes and fibre breakdown in the rumen ecosystem. J. Appl. Bacteriol. 70:144-155.
- Yokoyama, M. T., Johnson, K. A., 1988. Microbiology of the Rumen and Intestine In: The ruminant Animal. Digestive Pshysiology and Nutrition. Church, D. C. (ed) Waveland Press, INC. Illinois, USA. 125-144 pp.