

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE ZOOTECNIA**



**DETERMINACIÓN DE LA DESAPARICIÓN RUMINAL  
*in vitro* DE LA FRACCIÓN SOLUBLE DE HOJA DE  
MORERA (*Morus alba*)**

**CARLOS ERNESTO SEQUÉN ACEVEDO**

**Licenciado en Zootecnia**

**GUATEMALA, OCTUBRE DE 2022**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE ZOOTECNIA**



**DETERMINACIÓN DE LA DESAPARICIÓN RUMINAL *in vitro* DE LA  
FRACCIÓN SOLUBLE DE HOJA DE MORERA (*Morus alba*)**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**

**PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD**

**POR**

**CARLOS ERNESTO SEQUÉN ACEVEDO**

Al conferírsele el título profesional de

**Zootecnista**

En el grado de Licenciado

**GUATEMALA, OCTUBRE DE 2022**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
JUNTA DIRECTIVA**

DECANO:	M.A. Rodolfo Chang Shum
SECRETARIO:	M.Sc. Lucrecia Emperatriz Motta Rodríguez
VOCAL I:	M.Sc. Juan José Prem González
VOCAL II:	Lic. Zoot. Miguel Ángel Rodenas Argueta
VOCAL III:	M.V. Edwin Rigoberto Herrera Villatoro
VOCAL IV:	Br. Cesar Francisco Monzón Castellanos
VOCAL V:	P. Agr. Jorge Pablo Rosales Roca

**ASESORES**

Lic. Zoot. MIGUEL ÁNGEL RODENAS ARGUETA

M.Sc. SERGIO ANTONIO HERNÁNDEZ DE LA ROCA

## **HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

### **DETERMINACIÓN DE LA DESAPARICIÓN RUMINAL *in vitro* DE LA FRACCIÓN SOLUBLE DE HOJA DE MORERA (*Morus alba*)**

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de:

**LICENCIADO EN ZOOTECNIA**

## **ACTO QUE DEDICO:**

### **A MI**

“Que esfuerzo es el que me dedico Por ser yo quien hizo esto posible Por no dejarme vencer en los momentos difíciles, Y al creer en mi impulsándome a cumplir mis metas Hoy y siempre me enorgullezco.” *É.S.*

### **A MIS PADRES**

Gilda, Roberto y Coralia por su apoyo, conocimientos, lecciones de vida y amor.

### **A LA COMUNIDAD CIENTÍFICA**

Por ser los cimientos en el que se basó dicha pregunta de investigación.

### **A LA USAC**

Por ser la entidad de educación superior para el pueblo de Guatemala.

### **AL PUEBLO DE GUATEMALA**

Porque son los que forman la economía guatemalteca, financiando los servicios de educación pública.

### **AL DESARROLLO HUMANO**

Ya que, al ser la materialización de la superación del conocimiento a través del tiempo por una infinidad de seres sociales, nos brinda las oportunidades de ser parte de este mismo desarrollo.

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A MI**

Por ser quien logró superar este reto a pesar de los obstáculos, por dejarme vivir y guiarme a un mejor camino.

### **A MIS PADRES**

Gilda, Roberto y Coralia. Por el apoyo incondicional, el financiamiento, el cariño, los consejos, la paciencia y los ánimos que fueron parte fundamental en la elaboración de este trabajo de investigación

### **A MIS HERMANOS**

Alejandra, Emmanuel y Laura. Por los ánimos, apoyo y cariño que me brindaron.

### **A MIS AMIGOS**

Andrea, Evila, Juanjo, Renee, Debbie, Emmerson, Sergio y Rony; así como a todos de la clase del pregrado, postgrado y de la universidad. Por el cariño, apoyo, consejos, disipación de estrés y asesoramiento durante la elaboración de la tesis y mi formación profesional.

### **A MIS ASESORES**

Lic. Antonio y Lic. Miguel. Por introducirme al tema de investigación, por la inspiración y por ayudarme a dilucidar las incertidumbres que surgieron durante el camino.

**A LA FMVZ**

A todos y cada uno de los catedráticos que gracias a ellos poseo las capacidades y aptitudes para superar cualquier reto. Y por ser la casa mater de mi aprendizaje y formación profesional. Y a Kenia, Lesly, Norma y Mildred por su apoyo y paciencia en la obtención de los documentos.

**AL DEPARTAMENTO DE BROMATOLOGIA ET AL.**

Antonio, Wilber, Marina, Roberto, Ricardo y Carlos. Por el apoyo en asesoramiento, paciencia y equipo para la obtención de los resultados.

**AL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

M.V. Jacqueline y técnicos laboratoristas por su asesoramiento y recursos brindados.

**A LA GRANJA EXPERIMENTAL**

Por brindar el apoyo con los recursos vivos e inmuebles para la elaboración del trabajo de investigación.

**A MIS MASCOTAS**

Laila, Jürgen, Antonelo, Pedrin y Pedrintwo. Por brindarme la calma y liberar el estrés durante la elaboración el trabajo de investigación.

## ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	OBJETIVOS.....	3
	2.1 Objetivo general.....	3
	2.2 Objetivos específicos.....	3
III.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
	3.1 Fraccionamiento del alimento.....	4
	3.2 Sincronización ruminal.....	4
	3.3 Técnica <i>in vitro</i> .....	5
	3.4 Modelación de la degradación.....	6
	3.5 Proteína soluble – Morera.....	7
	3.6 Carbohidratos no estructurales –Maíz.....	8
	3.7 Sustrato – Cuba OM-22.....	8
	3.8 Hospedador – novillas Jersey.....	9
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
	4.1 Enfoque de la investigación.....	11
	4.1.1 Delimitación espacio.....	11
	4.1.2 Análisis químico proximal.....	11
	4.1.3 Materiales.....	12
	4.1.3.1 Características de las unidades muestrales.....	12
	4.1.4 Materiales para incubación.....	12
	4.1.5 Materiales nutricionales para la incubación.....	13
	4.2 Metodología.....	14
	4.2.1 Pre-experimento.....	14
	4.2.1.1 Fracción soluble de heno de morera.....	14
	4.2.1.2 Preparación.....	14
	4.2.1.3 Extracción de licor ruminal.....	14
	4.2.2 Experimento.....	15

4.2.2.1	Preparación del medio de cultivo e inoculación..	15
4.2.2.2	Medición del gas.....	16
4.2.2.3	Análisis e interpretación de los resultados.....	16
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	18
5.1	Resultados.....	18
5.2	Discusión.....	24
5.2.1	Desaparición ruminal.....	24
5.2.2	Producción de gas.....	27
5.2.3	Cinética de degradación.....	28
VI.	CONCLUSIONES.....	31
VII.	RECOMENDACIONES.....	32
VIII.	RESUMEN.....	33
	SUMMARY.....	34
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

## ÍNDICES DE CUADROS

Cuadro 1. Composición química de las materias primas alimenticias. ....	18
Cuadro 2. Efecto del tratamiento en la desaparición ruminal <i>in vitro</i> de la materia seca. ....	19
Cuadro 3. Desaparición <i>in vitro</i> del OM-22 según el tiempo de infusión. ....	19
Cuadro 4. Velocidad y producción de gas final <i>in vitro</i> por tratamiento. ....	20
Cuadro 5. Cinética de degradación a 24 horas de incubación del % de materia seca de la fracción soluble de heno de Morera. ....	21
Cuadro 6. Cinética de producción de gas a 24 horas usando el modelo de Gombertz. ....	22

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Modelación de la producción de gas acumulada por efecto del tratamiento. .....	21
Figura 2. Curva de predicción de la degradación de la fracción soluble de heno de Morus alba.....	22
Figura 3. Cinética de producción de gas por cada intervalo de tiempo. ....	23
Figura 3.1. Comparación entre los tres tratamientos.....	23
Figura 3.2. Comparación de la cinética sin interacción. ....	24

## I. INTRODUCCIÓN

Los rumiantes son útiles para el ser humano, pero también generan un peligro por su inadecuado manejo y la contaminación ambiental es un problema a nivel mundial que la ganadería Bovidae contribuye a ello (Blas et al., 2008). La reducción de compuestos nocivos, producto de la fermentación ruminal, deben de manejarse para que no tengan un impacto en el rendimiento productivo de los animales y para ello se han buscado diversas maneras para reducir el gas metano y los compuestos nitrogenados. En este contexto de mitigación, el papel de la nutrición tiene mucha relevancia que, entre las formas para obtener resultados, manipular el ambiente ruminal es de las más prometedoras (Firkins, 1996).

Para manipular este ambiente se requiere de medir el contenido de nutrientes de los alimentos que aportan a los rumiantes, lo cual ya requiere de un conjunto de datos puntuales y que varían entre especies forrajeras. Empezando con que estos alimentos poseen distinto contenido de compuestos bioquímicos y por esta variación, estos alimentos no son cien por ciento disponibles para el sujeto que los consume (Maynard, 1937). Los rumiantes necesitan la liberación de los nutrientes de cada material forrajero según la tasa de pasaje y degradación, es decir, por actividad microbiana, para que sean absorbidos en el tracto gastrointestinal (Anrique, 2010). Sin embargo, esta variación de compuestos también es clasificada según las fracciones del alimento ofrecido y del que ya está presente a nivel ruminal y son utilizadas a diferentes velocidades por el medio microbiano (Bruni & Chilbroste, 2001). Por lo tanto, medir el efecto de las porciones de un alimento forrajero a nivel ruminal permite deducir el aporte posible de nutrientes al animal hospedador.

La degradación ruminal es dada por el conjunto de materiales en fermentación y Pedraza (1998) realizó una comparación de las fracciones solubles e insolubles de Gliricidia en el rumen, encontrando que la fracción soluble ayuda a que la insoluble se degrade; esto se aplica a cada componente en el rumen ya que Lara y colaboradores (2009) compararon el efecto del maíz sobre la degradación de la

morera el cual si contribuyó a su degradación. Estrada y colaboradores (2009) midieron el efecto de dos tipos de energías sobre la combinación de pasto Estrella y Leucaena el cual dieron resultados satisfactorios para la degradación y producción de gas. Pero al contemplar las distintas velocidades de las porciones y los registros de producción de gas de *Morus alba* ya realizados, en las primeras horas ya poseen una desaparición o producción de gas (Lara et al., 2009; Martín et al, 2007). Por lo que posiblemente exista un efecto propio de las fracciones solubles, de los forrajes proteicos, en la degradación de todo el material. Especialmente si la degradación de la fracción soluble es más rápida que el tiempo de colonización que necesita la microbiota para la fracción insoluble, donde dicho tiempo, según Boschini (2001) es, para la pared celular, de 2.86 horas para *Morus alba*.

En el presente estudio se utilizó la técnica de producción de gas de Theodorou (1994) con ciertas modificaciones para también estudiar el porcentaje de desaparición de la materia seca a 24 horas de incubación esto con el fin de profundizar en el estudio de la interacción entre los distintos materiales alimenticios. Con el objetivo de identificar cómo se comporta la interacción en la liberación de gas y desaparición del sustrato en tres tiempos de infusión usando la fracción soluble de heno de *Morus alba* en un sustrato de OM-22 con maíz como fuente de energía. Y así identificar el comportamiento de los materiales en fermentación sobre su entorno, como lograr encontrar las posibles deficiencias de la sincronización de energía y proteína al medio microbiano ruminal.

## II. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo general

- Generar mayor información sobre la degradación ruminal al sincronizar la liberación de energía del maíz y proteína de *Morus alba* en el medio microbiano.

### 2.2. Objetivos específicos

- Determinar la cinética de degradación a 24 horas de la fracción soluble de heno de *Morus alba* (%MS).
- Identificar el tiempo requerido de degradación efectiva de la fracción soluble de heno de *Morus alba* (h).
- Identificar el tiempo de inoculación con producción de gas y porcentaje de desaparición del sustrato (h).
- Determinar la tasa, curva y producción de gas a 24 horas con los mayores índices según el tiempo de inoculación (ml/h y ml/24 horas).

### III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1. Fraccionamiento del alimento

Los alimentos forrajeros, se componen por varias fracciones que poseen distinto contenido de nutrientes y con las intervenciones de la Universidad de Cornell (NY), se estableció el sistema Cornell (CNCPS) el cual expone que el forraje se divide en fracciones con una degradación particular al momento de interactuar con el ambiente ruminal. Son cinco fracciones, tomando en cuenta desde la fracción del nitrógeno no proteico de los alimentos de rebrote temprano, hasta la lignina no degradable, donde estas fracciones del alimento poseen una velocidad de degradación diferente que junto con el ritmo fraccional de tránsito establece el aporte de nutrientes a cierta velocidad (Guada, 1996). Y por dicha liberación independiente de nutrientes, estas fracciones afectan a los demás componentes alimenticios presentes, por lo que estos componentes intervienen en toda la degradación afectando a los otros materiales.

Según el sistema de clasificación Cornell –para los forrajes en alimentación de rumiantes– el forraje se divide en porción altamente degradable, porción soluble, insoluble o lentamente degradable, porción potencialmente degradable y porción no degradable, pero estos componentes no son estáticos durante toda la vida de la planta, conforme va creciendo ciertos componentes disminuyen y otros aumentan (Atencio *et al.*, 2014). La evaluación del momento óptimo de corte se basa en este principio, que busca mejor calidad y mejor rendimiento/hectárea. Entonces estas fracciones solubles e insolubles liberan nutrientes que son utilizados para la degradación del mismo material (Bruni & Chilbroste, 2001; Pedraza, 1998) como para el material adyacente.

#### 3.2. Sincronización ruminal

La manipulación ruminal posee diversas formas de realizarse, como en el rumen, los alimentos que son ingeridos por el *Bovidae* son atacados por los microorganismos, por lo tanto, el alimento del animal cambia (Relling & Mattioli,

2003). Al final los ácidos grasos volátiles y la proteína microbiana son los principales aportadores de energía y proteína al animal (Santini, 2014; Dean, 2015). Entonces controlar el comportamiento de los microorganismos podría realizarse al calcular el momento de liberación de los compuestos energéticos y nitrogenados para que las bacterias logren obtener los metabolitos necesarios en la realización de actividades metabólicas. Actividades que, como desencadenante de las demás reacciones bioquímicas, logran establecer el crecimiento de la población microbiana y este crecimiento que, por mayor población, mayor poder de degradación y mayor generación de ácidos grasos, lo que hace que esa unión en el tiempo adecuado de los metabolitos necesarios para los microorganismos, sirve en la síntesis de proteína microbiana para su reproducción (Sniffen & Robinson, 1987).

### **3.3. Técnica *in vitro***

Para la evaluación de los procesos ruminales se ha requerido a lo largo de la historia de instrumentos que permiten al usuario percibir sensorialmente los mecanismos del rumen y el estudio que se ha realizado a lo largo de su inicio fue utilizando los métodos de Tilley & Terry (1963) y Orskov & McDonald (1979) con las estimaciones *in vitro e in situ* en identificar como un material alimenticio desaparece a lo largo del tiempo en el rumen, que posteriormente se estableció que no solo la desaparición es un indicador de la degradación o de aporte de nutrientes (Menke et al., 1979) y las técnicas que empezaron a evaluar el contenido energético por el gas producido generó otro panorama de cómo evaluar el comportamiento microbiano ruminal con respecto a los materiales forrajeros (Schofield et al., 1994). Más recientemente el estudio del microbioma ruminal ha dilucidado el efecto genético de las especies microbianas en el rendimiento animal (Li et al., 2016), pero para medir se requiere de equipo para la incubación de una muestra de microorganismos ruminales y someterlas al forraje en las condiciones más parecidas al rumen natural (Shofield & Pell, 1995). Así como el equipo y técnicas de laboratorio para la identificación más exacta de la ecología ruminal como de los indicadores de su actividad (Li et al., 2016; Islam & Lee, 2018; Zhou et al., 2018). En la universidad de

Beijing desde el 2012 se utiliza un sistema continuo de simulación ruminal, siendo esta tecnología, la más exacta hasta ahora en los ajustes correspondientes para la mayor similitud al rumen natural (Shen et al., 2012). Para las técnicas de identificación microbiana, así como su relación con la fermentación de los forrajes se encuentra el estudio del meta-omics (Islam & Lee, 2018), por lo que la tecnología juega un papel determinante tanto en el avance de la investigación científica como para una aplicación más focalizada en campo.

### **3.4. Modelación de la degradación**

La predicción de los acontecimientos en el rumen es útil para el control e identificación de los hechos considerando que lo que se modela es una muestra, entonces la utilización del análisis estadístico como de las herramientas matemáticas sirven para que esta predicción del comportamiento de una muestra represente a su población, que en este caso sería el complejo microbiano ruminal. Como en el rumen los acontecimientos bioquímicos son específicos, muchos comportamientos tienden a ser irregulares, distintos para un mismo alimento (Pulido, 2010; Relling & Mattioli, 2003). Por lo que existen distintos tipos de modelos matemáticos que buscan ajustarse lo más exacto posible a la realidad (Assis et al, 2021), donde entre los modelos más utilizados para la cinética de degradación ruminal y la más antigua es la propuesta por Orskov & McDonald (1979) ya que la ecuación es de tipo exponencial y se asume que los valores son degradados a una misma velocidad. Posteriormente se desarrollaron otras ecuaciones aplicando ciertos ajustes, como la propuesta por France (1993) y otros modelos como las logísticas, o la de gompertz que requieren tiempos de incubación largos para medir los distintos comportamientos, donde entre las conclusiones obtenidas en algunas investigaciones, mencionan que para la misma toma de datos, las modelaciones multifásica, como los modelos bicompartimentales exponencial o logístico poseen mejor grado de exactitud (Cabral et al., 2019), pero que cada modelo se ajustará según el tipo de alimento a incubar y el criterio del investigador (Van Milgen et al., 1991; Peripolli et al., 2014).

### 3.5. Proteína soluble - Morera

La proteína es de los macronutrientes altamente utilizados en la alimentación animal como en la humana, Ya que provee de los metabolitos que se requieren para los procesos fisiológicos y convencionalmente el estudio de la proteína es ampliamente trabajado para el rendimiento productivo, teniendo en cuenta ciertas limitaciones de elección del material y su modo de uso para aumentar rendimiento productivo (Kuoppala et al., 2021). En rumiantes, las proteínas comúnmente llamadas verdaderas, poseen la ventaja de favorecer al complejo microbiano en la utilización de estos aminoácidos preformados y evitar el desgaste de energía en su formación (McAllan & Smith, 1983), por lo que antiguamente se pretendía que entre mayor consumo de proteína mayor rendimiento pero realmente en rumiantes, esto genera pérdidas importantes de compuestos nitrogenados en orina y heces que llegan a ser un contaminante del suelo y fuentes de agua (Blas et al., 2008). Sumado al hecho fisiológico del reciclaje de nitrógeno, se requiere de comprender cómo usar estos recursos para evitar pérdidas económicas.

En Guatemala, como en Centroamérica y en varios países del mundo, se ha reportado el uso de *Morus alba* como un forraje de alta calidad para suplementación en sistemas de producción con rumiantes (Bochini, 2001; Martín et al., 2007; Benavídes et al, 2002), puesto que posee índices adecuados en su composición bioquímica y su interacción en el ambiente ruminal (Schmidek et al, 2002.). Los niveles de proteína, cinética de la degradación y el potencial de digestibilidad es superior a varios forrajes utilizados comúnmente en la ganadería (Boschini, 2001; Boschini-Figueroa, 2006). La calidad de este forraje se ha estudiado con diferentes enfoques como la edad de rebrote, producción de biomasa, partes botánicas, el tipo de clon o por formas de conservación (Boschini et al., 1998; Schmidek et al., 2000; Bochini, 2001; Huahuarunta, 2015). Y su potencial de utilización está dirigido como un forraje con alto contenido de proteína y una alta fracción degradable para generar el nitrógeno necesario para esta microbiota ruminal (Lara et al., 2009). Por lo que entender cómo se puede utilizar estos recursos forrajeros ayudaría a la salud ruminal como a la producción sostenible.

### **3.6. Carbohidratos no estructurales – Maíz**

Los carbohidratos no fibrosos (CNF) poseen ciertas ventajas para la eficiencia productiva (Tamminga et al., 1990), a nivel ruminal, es más importante la energía por la falta de un suministro endógeno al rumen como sí pasa con el nitrógeno (Stern et al., 1994). La energía disponible en el rumen proviene principalmente de los carbohidratos estructurales que ingieren de los pastos y forrajes. Pero la ruptura de los enlaces glucosídicos es complicada de realizar considerando que las bacterias son inmóviles y necesitan liberar un complejo enzimático para realizarlo (Corrales et al., 2015) como los *Ruminobacter amylophilus* y *Ruminococcus albus* para almidón y pared celular respectivamente, Aunque la energía de los pastos y forrajes se encuentra presente en el rumen, la disponibilidad de estos es baja en comparación a la energía liberada por los CNFs. Además, el almidón es utilizado por bacterias amilolíticas que lo degradan para obtener los disacáridos (Cajarville & Repetto, 2005). Y dado que estas bacterias son formadoras de propionato, no solo es más directo el aporte de energía hacia el animal, sino que también, por las rutas metabólicas de exigencia de hidrogeniones, pueden reducir la producción de metano (Ramírez-Bribiesca, 2018), pero aunque el almidón es de relativa rápida fermentación, aún posee un tiempo de retraso para la colonización (Guada, 1996; Rodríguez et al., 2007), Entonces considerar a los CNF en las degradaciones de los demás componentes genera una ampliación del valor nutricional de los materiales alimenticios para rumiantes.

### **3.7. Sustrato – Cuba OM-22**

Los rumiantes son herbívoros por naturaleza y el alimento natural y predominante de estos animales es el pasto como una gramínea rastrera o amacollada. Pero la intervención del ser humano ha logrado utilizar a estos animales para un fin utilitario donde estos alimentos forrajeros son de gran importancia por ser de menor costo económico especialmente por utilizar la energía solar para crecer y este alimento provee de energía y nitrógeno que puede ser utilizado por la microbiota ruminal pero que en realidad no todo es aprovechado dado por los

niveles de lignificación (Rodríguez et al., 2007) y otras razones. Esta pérdida de alimento no aprovechable puede modularse según el potencial degradador de las bacterias que a su vez dependerá de varios factores, que entre estos están: por especie del material alimenticio, por especie microbiana presente y activa, pH, niveles de lignificación, los macros como micronutrientes disponibles para la microbiota, etc. (Paradiso et al., 2021; Pulido, 2010; Relling & Mattioli, 2003).

El pasto de corte Cuba OM-22 es una variación del Napier dado por el cruzamiento entre el Cuba CT-169 es decir, *Pennisetum purpureum Schumach* con el *Pennisetum glaucum tiffon late* o también conocido como Millo perla (Palma & Raudez, 2018). Siendo el propósito de este cruzamiento la adaptación a climas cálidos, propios de la ganadería tropical que se observa en varios lugares de Guatemala, por lo que es importante evaluar el rendimiento de este forraje que tiene altas expectativas sobre todo al ser capaz de proveer el crecimiento en aproximadamente 45 días.

### **3.8. Hospedador – novillas Jersey**

El hospedador es de los factores más determinantes en el rendimiento productivo en campo (Hall & Huntington, 2008), El *Bovidae Bos primigenius taurus*, es de los rumiantes mayores con aceptables índices productivos y aunque esta raza –jersey– es de talla pequeña posee gran potencial en la producción láctea. Sin embargo, para que la segregación de leche suceda, se debe considerar los aspectos reproductivos y con la reproducción traen consigo otra serie de problemas que afrontar para una preñez, gestación, lactancia y recuperación saludable (Bolívar et al., 2009). Lo anterior indica que existen varias razones para un mal rendimiento productivo, desde una enfermedad, hasta problemas derivados del estrés calórico continuo u otra alteración intrínseca o extrínseca al animal (Wayne, 1995).

En las investigaciones *in vitro*, el efecto del animal también es bastante marcado, donde en términos de procedimiento, cuando no se posee animales fistulados, la extracción del licor ruminal puede llegar a ser problemático dependiendo de la técnica, tamaño y temperamento del animal, la experiencia del

Médico Veterinario y la dieta. Pero orientándose a los objetivos que se trazaron, la dieta juega un papel importante por los metabolitos que pueda poseer el ambiente en el momento de la toma de la muestra, además de las características físicas (Kelly & Basford, 2000). Por lo que el cuidado de los animales en cada etapa de la vida de manera integral para promover la salud del hato forma el marco indispensable, que con otras estrategias productivas, nutricionales y reproductivas generan resultados beneficiosos para la explotación.

## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Enfoque de la investigación**

El enfoque de esta investigación está basado en el paradigma positivista por el análisis de la información bajo datos cuantitativos como indicador de la realidad. Por ende, se busca esclarecer el aporte de nutrientes de un material forrajero en un ambiente sincrónico durante el tiempo, donde dichos resultados fueron sometidos a análisis estadísticos para su interpretación. Esta investigación es de tipo experimental por el control exhaustivo de las variables.

#### **4.1.1 Delimitación espacio**

El estudio se realizó en las instalaciones de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad San Carlos de Guatemala, donde se realizaron las pruebas experimentales, los análisis químicos de los materiales en el laboratorio de bromatología de la Escuela de Zootecnia y el inóculo microbiano ruminal y el forraje Cuba OM-22 fueron obtenidos de la granja experimental. Mientras que la muestra de Morera fue obtenida de la finca Medio Monte ubicada en Palín, Escuintla y el maíz fue obtenido en la terminal de la zona 4 de la ciudad capital.

#### **4.1.2 Análisis químico proximal**

Los análisis de laboratorio para identificar el contenido de nutrientes se realizaron por medio del método de Weende con la variación de Van Soest, donde se utilizó el horno de aire forzado para la obtención de materia seca parcial. Se utilizó el horno de combustión para la extracción de las cenizas, el equipo Soxhlet para la extracción de los lípidos. El reactivo con el equipo Kjeldahl para la medición del nitrógeno con el factor 6.25 para estimación de la proteína. Se utilizó la solución fibra neutro detergente para disolver el contenido celular la solución ácida fue utilizada para identificar las porciones menos digeribles de la pared celular –lignina

y celulosa– y para separar la lignina de la celulosa, se utilizó la lignina ácido detergente.

### **4.1.3 Materiales**

#### **4.1.3.1 Características de las unidades muestrales**

La manipulación de las variables en este estudio inició con la obtención de las unidades muestrales, donde cada unidad muestral estuvo conformada por una muestra del licor ruminal de una novilla de la raza Jersey y medio de cultivo, dicha novilla fue la más grande del lote (de seis novillas), y por ende la que no presentó problemas para la extracción del licor ruminal por vía nasofaríngea y el lote de novillas fue alimentada por raciones parcialmente mezcladas, en 4 ofrecimientos desde las 7 de la mañana hasta las 3 de la tarde para que la extracción fuera al octavo día. La dieta incluía ensilado de maíz, napier picado, alimento balanceado para novilla y maíz blanco molido y fue para establecer también la microbiota amilolítica la cual se identificó tanto durante la alimentación con la medición del consumo voluntario por día, así como por la integridad de las excretas y la presencia de agua durante la extracción del licor (mayor agua indica propio-génesis) (Ramírez-Bribiesca, 2018). En la elaboración de las unidades muestrales, se filtró el licor ruminal con el uso de bolsas de nylon. El residuo se licuó junto con una fuente de CO<sub>2</sub> (usando reacción ácido-base) y nuevamente filtrando para desprender el microbiota adherido a la fibra.

#### **4.1.4 Materiales para incubación**

Dado al requerimiento de un equipo para mantener las condiciones más reales al rumen posibles se construyó un artefacto para lograr cumplir el requisito, donde para mantener la temperatura constante se utilizó una cámara en baño María a una temperatura constante de 39 grados centígrados con una histéresis de  $\pm 1$  grado, para el movimiento constante se realizó a mano con un movimiento leve después de cada lectura. Para la lectura de gas se realizó por medio de jeringas y el nivel de

agua, el medio de cultivo utilizado fue el propuesto por Menke & Steingass (1988) con las variaciones de Pedraza (1998), para la lectura del pH del medio fue realizado por tiras de indicador de pH, los contenedores eran frascos de vidrio color ámbar de 250 ml y para la anaerobiosis se utilizó un flujo presión de 5-10 psi de CO<sub>2</sub>.

#### **4.1.5 Materiales nutricionales para la incubación**

El material a incubar como sustrato fue una muestra aleatoria de cuatro plantas en un tramo del potrero de aproximadamente 250 metros cuadrados de cuba OM-22 a 45 días de descanso, este fue picado en una picadora estacionaria, secado en horno de aire forzado a 60 grados centígrados por 48 horas y molido en un molino con un tamaño de criba de 3 mm. La fuente energética fue maíz blanco molido por un molino de martillo, pero tamizado a 2mm para la incubación. La fuente proteica fue de una muestra obtenida aleatoriamente de seis plantas a 60 días de descanso en una parcela establecida de Morera.

Para el medio mineral amortiguado que se utilizó fue el de Pedraza (1998) con modificaciones de Cobos & Yokoyama (1995), donde el medio estuvo compuesto por una solución macromineral (5.7g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (fosfato di sódico), 6.2g de KH<sub>2</sub>P0<sub>4</sub> (fosfato mono potásico) y 0.6g de MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O (sulfato de magnesio hepta hidratada) en un litro de agua destilada), una micromineral (6 g de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (fosfato di potásico) en un litro de agua), una solución buffer (35.0g de NaHCO<sub>3</sub> (bicarbonato de sodio) y 4.0g de (NH<sub>4</sub>) HCO<sub>3</sub> (bicarbonato de amonio) en un litro de agua destilada) y una reductora (2 ml de 1N de NaOH y 285.0mg de Na<sub>2</sub>S 7H<sub>2</sub>O (sulfato de sodio heptahidratada) en 47.5 ml de agua destilada).

## **4.2. Metodología**

### **4.2.1. Pre-experimento**

#### **4.2.1.1. Fracción soluble de heno de morera**

La obtención de la fracción soluble del heno de morera fue la utilizada convencionalmente, se dejó henificado el forraje bajo sombra, el cual tardó aproximadamente 20 - 28 horas. Luego se separó la hoja del tallo y del pecíolo. Se molió por partes en una licuadora de modo que se tuviese la menor pérdida de partículas finas (polvo) colocando la licuadora dentro de una bolsa de plástico. Luego el material molido se mezcló con agua destilada y se llevó a 39 grados centígrados por una hora, esto para separar la fracción soluble de la insoluble. El líquido con la solución se llevó al laboratorio de bromatología para su deshidratación a 40 grados centígrados por 72 horas aproximadamente y raspado para extraer el material en polvo. Luego este material fue almacenado en frasco de vidrio hermético e identificado hasta su utilización.

#### **4.2.1.2. Preparación**

Posteriormente de establecer la cámara de incubación, realizando pruebas con heces bovinas y previo a la extracción del licor ruminal, la cámara se dejó temperar, tardando 8.5 horas en las cuales se utilizaron para realizar los componentes del medio mineral amortiguado exceptuando la solución reductora (Martínez, 2005). Así como el pesaje, e incorporación en las bolsas de nylon, de 200 miligramos de la fracción soluble de morera, 200 mg de maíz a 2mm y 200 mg del OM-22 a 3 mm.

#### **4.2.1.3. Extracción del licor ruminal**

El manejo alimenticio fue realizado cambiando la dieta paulatinamente para llegar a una segura adaptación y así lograr una degradación ruminal tanto de celulosa como de almidón, donde la extracción del licor ruminal fue realizada por un

médico veterinario experto en el área, también se utilizó una bomba manual metálica y sonda con la medida descrita por (Martín et al., 2007), el traslado al área de incubación fue realizado con el uso de un termo hermético en una hielera temperada con agua caliente a 39 grados aproximadamente y tardando menos de 2 horas para su utilización en la primera incubación, el resto que aproximadamente fue la mitad de lo extraído se colocó en congelación para almacenar el licor y poder ser utilizado en la siguiente corrida, regresando a la temperatura normal lentamente para evitar muerte por shock térmico (Weimer, 2015).

#### **4.2.2. Experimento**

##### **4.2.2.1. Preparación del medio de cultivo e inoculación**

El medio de cultivo se realizó de la siguiente manera, donde los frascos fueron primeramente temperados en la cámara, se agregó en el siguiente orden las soluciones en un beaker de 600 ml, los cuales comprenden la cantidad para dos unidades muestrales.

1. 82.4 ml de agua destilada.
2. 41.2 ml de solución micro mineral.
3. 41.2 ml de solución buffer.
4. 52.2 ml de solución macromineral.
5. En este punto se mezcló bien y se le aplicó un pequeño burbujeo de CO<sub>2</sub> así como su medición del pH para asegurar que no estuviese por debajo de 7 ni por encima de 8.
6. 8.2 ml de solución reductora el cual se realizó por aparte y al estar bien mezclada, ser incorporada al medio.

En cada frasco de vidrio se incorporó 112.5 ml de medio de cultivo, seguidamente por el 30 ml de inóculo microbiano y solo la bolsa de nylon que contiene el OM-22 para finalmente ser sellado con el tapón conectado al medidor de gas. Realizando este procedimiento seis veces (Beuvink, 1993).

#### **4.2.2.2. Medición del gas**

Las lecturas de gas se llevaron a cabo cada 2 horas por 24 horas, esto realizado después de que empezara a producir gas el sustrato, el cual tardó aproximadamente 7 horas con 41 minutos, a este tiempo se incorporó la bolsa de nylon con el maíz para todos los frascos de cada tratamiento, el cual está compuesto por 3 repeticiones y un testigo. Para el tratamiento 1 que corresponde los primeros 3 frascos, la bolsa con la fracción soluble se incorporó al mismo tiempo que el maíz. A las 3 horas después, se introdujeron, en los siguientes 3 frascos, las bolsas con la morera, así mismo, 3 horas después fue la última incorporación. Dando así 0, 3 y 6 horas de tiempos de inoculación de la proteína al medio, el nivel de agua del manómetro fue anotado para luego medir la cantidad de gas en ml (ml de gas = nivel de agua final – nivel del agua inicial).

#### **4.2.2.3. Análisis e interpretación de los resultados**

Las variables que se contemplaron para el estudio fueron dos dependientes y una independiente durante todo el tiempo de experimentación. Como variable predictora o independiente (tratamientos y controles) están las horas de 0, 3, y 6 horas de infusión de la fracción soluble. Así como las incubaciones solitarias con el medio de cultivo con la fracción soluble, con maíz, pasto Cuba OM-22 y pasto con maíz. Las variables respuesta o dependiente son la producción de gas acumulada a 24 horas de incubación, así como la desaparición del material en el mismo tiempo. El tiempo en horas de 0 a 24 horas no es una variable de causalidad. Solo de correlación por lo que se utilizó un análisis de regresión lineal para su análisis estadístico, el cual fue utilizado para la modelación matemática para su predicción (Assis et al., 2021).

Para esta modelación de la producción de gas, se utilizó el modelo exponencial ya que fue el modelo que mejor se ajustó con estos datos por ser a solo 24 horas de incubación.

$$y=a*(1-e(-c*t))$$

Donde Y es la predicción de producción de gas, a es la producción de gas máxima cuando t es infinito, c es la tasa de eficiencia microbiana, y representando al número de Euler (2.7182...) y el tiempo de incubación.

Para la segunda modelación, pero ya de la degradación de la materia seca de la fracción soluble de heno de morera, se utilizó el modelo de gompertz ya que también fue el que mejor representa la degradación de las porciones fácilmente degradables.

$$y=A*e^{(-Be-C*t)}$$

Donde Y es la predicción de la degradación, A es la porción rápidamente degradable, B es la porción lentamente degradable, C tasa de degradación.

Para el análisis de la información obtenida, se utilizó las medidas de tendencia central. Con el objetivo de informar los resultados obtenidos de las incubaciones. De esta manera se analizó los resultados a pesar de la poca cantidad de información recopilada. Y poder concluir sobre el efecto de los tratamientos que generan una diferencia. Y para la modelación matemática de producción de gas, degradación y degradación efectiva se utilizó la función solver en el programa Excel. Y para la elaboración de las pruebas estadísticas se utilizó la plataforma R studio.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Resultados

*Composición química.* El contenido de nutrientes de las materias primas alimenticias utilizadas se reporta en la Cuadro 1. Donde para el maíz representa la materia seca total, mientras que para los demás materiales es únicamente parcial.

**Cuadro 1.** Composición química de las materias primas alimenticias

Material/nutriente	Morera entera (hoja)	OM-22	Maíz molido
MS:	18.64	12.55	93.37
MO:	80.74	82.05	98.48
PC:	18.37	10.39	10.85
CC:	30.3	36.84	47.86
CNF:	10.4	25.03	32.7
FND:	69.7	63.16	52.14
FAD:	38.44	36.57	-
LG:	14.52	11.26	-
EE:	1.53	1.42	4.31
Celulosa:	23.92	25.31	-
Hemicelulosa:	31.26	26.59	-
CNZ:	19.26	17.95	1.52

MS= Materia seca, MO = materia orgánica, PC= proteína cruda, CC= contenido celular, CNF= carbohidratos no fibrosos, FND= fibra neutro detergente, FAD= fibra ácido detergente, LG= lignina y EE= extracto etéreo.

*Desaparición ruminal in vitro.* La desaparición de la materia seca. –DIVMS– encontrada para cada material según el tiempo de interacción se detallan en la Cuadro 2, donde se observa que el tratamiento de 3 horas de infusión, afecta la desaparición de la materia seca de la fracción soluble de heno de morera y del OM-22 y se observa que el uso de maíz y proteína soluble afectan la desaparición de la materia seca del OM-22 y este sustrato también es afectado si es adicionado al rumen con solo maíz. También se percibe que, desde la perspectiva del maíz, su desaparición no se vio afectada por la incorporación de algún tratamiento ni por la presencia de únicamente sustrato. Para la fracción soluble del heno de morera en

el tercer tratamiento se observó que no se vio afectada su desaparición, siendo un valor muy parecido a la DIVMS de solo la FS.

**Cuadro 2.** Efecto del tratamiento en la desaparición ruminal *in vitro* de la materia seca

% DIVMS	MS media
<b>OM-22</b>	
Infusión simultanea	30
Infusión a 3 horas	26.67
Infusión a 6 horas	29.17
Solo OM-22	56.67
<b>Morera</b>	
Infusión simultanea	72.5
Infusión a 3 horas	68.33
Infusión a 6 horas	86.67
Solo Morera	87.5
<b>Maíz</b>	
Infusión simultanea	65.83
Infusión a 3 horas	63.33
Infusión a 6 horas	81.67
Solo Maíz	73.33
Desaparición del sustrato con solo maíz	16.67
Desaparición del Maíz con solo el sustrato	64.17

La desaparición *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO) y de la fibra neutro detergente (DIV-FND) encontrada para el OM-22 según el tiempo de interacción se detalla en la Cuadro 3.

**Cuadro 3.** Desaparición *in vitro* del OM-22 según el tiempo de infusión

OM-22	DIVMO:	DIVFND:
Infusión simultanea	23.285	35.987
Infusión a las 3 horas	21.089	39.312
Infusión a las 6 horas	23.641	33.264

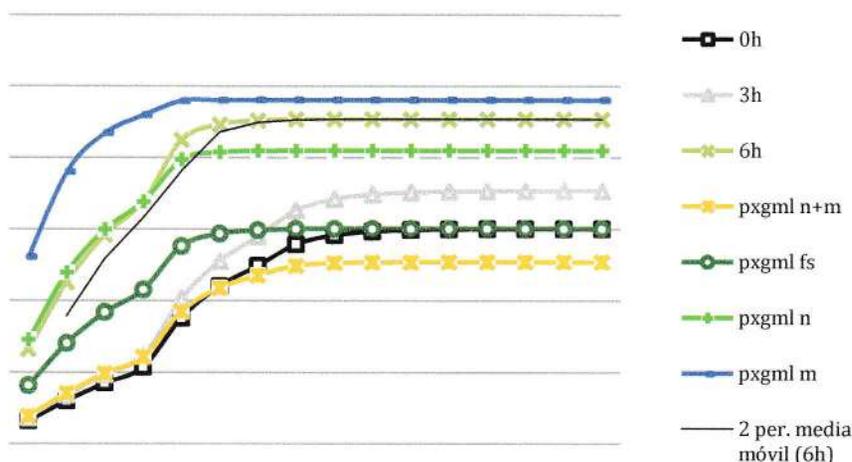
*DIVMO = desaparición in vitro de la materia orgánica, DIVFND = desaparición in vitro de la pared celular.*

*Producción de gas in vitro.* Los promedios de producción de gas con su tasa en ml por hora en el cuadro 4, en donde se aprecia que la combinación del OM-22 con solo el maíz es el más afectado por el efecto de los tratamientos y el tratamiento a 6 horas de infusión fue el que generó una diferencia. También se muestra una alta determinación de la producción de gas según el tiempo, aunque arrojando coeficientes de determinación bajo para el maíz y la fracción soluble de morera incubadas por separado  $-R^2=0.86$  y  $0.88$  respectivamente– (Cuadro 3).

**Cuadro 4. Velocidad y producción de gas final *in vitro* por tratamiento**  
**Producción acumulada de gas a 24 horas de incubación**

Materia prima	Cantidad	Tasa	R <sup>2</sup>	P > F
	de gas (ml)	(ml/h)		
	Media	Media		
Infusión simultanea	15	1.20	0.9823	<0.00001
Infusión a 3 horas	17.67	1.47	0.9885	<0.00001
Infusión a 6 horas	22.67	2.01	0.973	<0.00001
Solo OM-22	20.47	1.61	0.9497	<0.00001
Solo Morera	15	1.18	0.8893	<0.0001
Solo Maíz	24	1.88	0.8623	<0.0001
OM-22 con maíz	12.67	0.86	0.9613	<0.00001

**Figura 1.** Modelación de la producción de gas acumulada por efecto del tratamiento



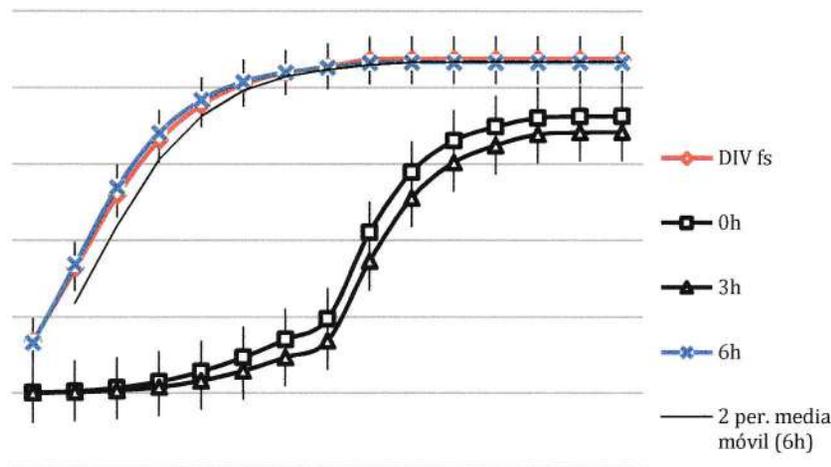
*Cinética ruminal in vitro.* Para los resultados de la predicción de la degradación con el modelo exponencial para la fracción soluble del heno de morera se muestra en el cuadro 5 y figura 4, donde se aprecia la existencia de una porción soluble rápidamente degradable especialmente para la infusión a 6 horas y para la fracción soluble por separado, tardando para una degradación efectiva de 1.90 y 2.02 horas respectivamente. El tiempo requerido para una degradación efectiva del 99.01% de las infusiones 0 y 3 horas tardaron aproximadamente 11 horas.

**Cuadro 5.** Cinética de degradación a 24 horas de incubación del % de materia seca de la fracción soluble de heno de Morera

Degradación (%MS)	a	b	DP a 0.5 h	DP a 3 h	DP a 12 h	TE (0.04)	DE 24h a 0.04	DE 24h a 0.08
Infusión a 0 horas	20.205	7.66	0.043	2.617	19.43	4.22	17.064	15.505
Infusión a 3 horas	19.043	8.82	0.015	1.631	18.06	4.31	16.022	14.532
Infusión a 6 horas	24.154	3.72	3.719	22.73	24.15	1.90	22.383	21.318
F. soluble sola	24.38	3.48	3.822	22.53	24.38	2.02	22.490	21.363

Donde a = la porción rápidamente degradable, b = porción lentamente degradable, DE= degradabilidad efectiva, kp = tasa de pasaje, DP = degradabilidad potencial a tiempo t, TE = hora efectiva, momento de la degradación máxima.

**Figura 2.** Curva de predicción de la degradación de la fracción soluble de heno de *Morus alba*



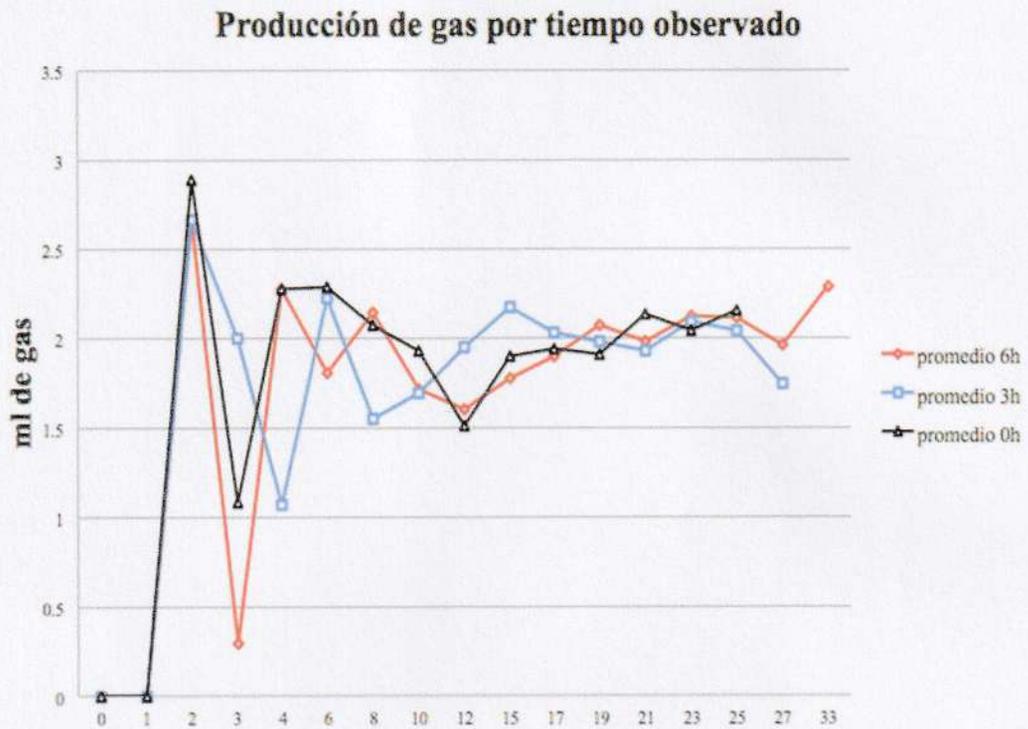
La cinética de producción de gas utilizando el modelo doble exponencial, se muestra en el cuadro 6 donde se aprecia que el maíz molido posee la mayor velocidad de producción de gas promedio como indicador de la eficacia microbiana de utilización de carbohidratos, seguida por la velocidad del OM-22, tratamiento 3 de 6 horas de infusión y fracción soluble (1.75, 1.37 y 1.26 respectivamente). Y se observó una menor eficacia para el tratamiento 2, de 3 horas de infusión, para la producción por gramo de materia seca, la infusión a 6 horas de la fracción soluble del heno de morera generó mayor cantidad de gas y la combinación del sustrato solo con la energía, generó menor cantidad de gas.

**Cuadro 6.** Cinética de producción de gas a 24 horas usando el modelo de Gombertz

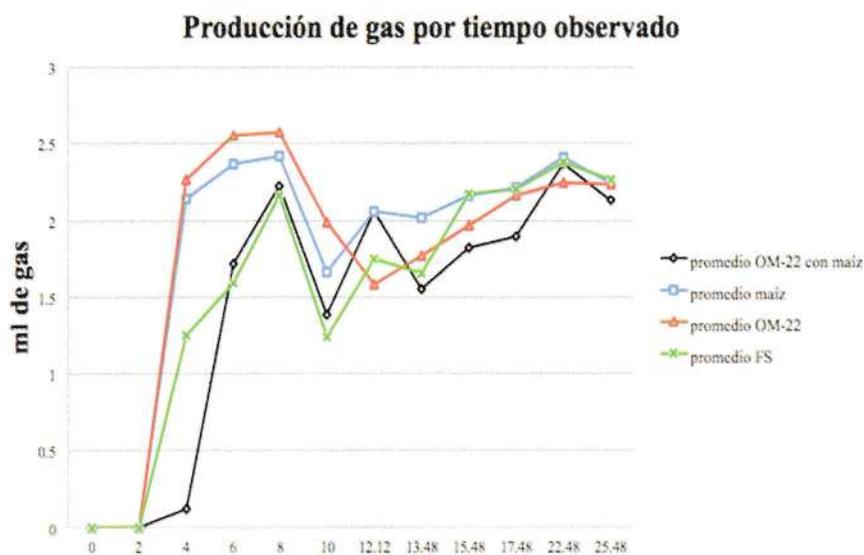
Material	C	ml gas <sup>-1</sup> MS	%Gas a 1 hora	% Gas a 3horas
Infusión simultanea	0.44	74.92	35.75	73.45
Infusión a 3 horas	0.43	92.08	34.84	72.29
Infusión a 6 horas	1.37	125.1	74.74	98.48
Fracción soluble	1.26	75	71.86	97.89
OM-22	1.75	102.33	82.73	99.59
Maíz molido	3.13	120	95.72	100.09
OM-22 y maíz	0.65	66.67	47.98	85.96

Para la identificación gráfica de la cinética de producción de gas por intervalo medido, según la presencia de una interacción y según el tipo de interacción, se encuentra en la figura 3.

**Figura 3.** Cinética de producción de gas por cada intervalo de tiempo



**Figura 3.1.** Comparación entre los tres tratamientos



**Figura 3.2.** Comparación de la cinética sin interacción

## 5.2. Discusión

### 5.2.1. Desaparición ruminal

En el presente estudio no hubo una degradación completa de la fracción soluble a las 24 horas (cuadro 2), lo que nos hace pensar que la fracción soluble también tiene una porción soluble pero potencialmente degradable y que debería ser lentamente degradable, debido que en los resultados obtenidos por Pedraza (1998), entre las conclusiones, menciona que la fracción soluble afecta a la insoluble. También esto es respaldado por los resultados obtenidos por Morales y col. (2021) donde encontraron que las porciones de proteína no degradable en el rumen se vieron afectadas por la solubilidad de la proteína. Por otro lado, Stefanski y col. (2020) concluyó que la utilización de las proteínas solubles rápidamente repercute positivamente en el metabolismo del nitrógeno ruminal, por lo que se podría decir que la liberación de los componentes de la fracción soluble afecta a la degradación de la insoluble y viceversa. Lo que genera un inconveniente puesto que la degradación termina siendo más que la suma de sus partes.

La adición de un sustrato, una fuente energética y una proteica genera diferencia con respecto a los resultados de cualquier material incubado por sí solo (cuadro 2). En el rumen, las materias primas fibrosas ofrecidas a los animales poseen un largo tiempo de permanencia en él, donde su recambio dependerá de la tasa de degradación y de pasaje (Maynard, 1937) y al permanecer períodos de más de 3 días, la interacción en el rumen de las diferentes materias primas ofrecidas es ineludible.

Para el sustrato (Cuba OM-22) la desaparición disminuyó con la interacción, resultados también reportados por Sinclair y col. (1993) donde se observó hasta un 30% menos de degradación de la fibra en el ambiente sincrónico, esto puede ser debido por la disponibilidad de nutrientes en el rumen con el tipo de microbiota presente/activa, ya que se sabe que existe también una competencia entre especies, como *Selenomonas ruminantium*, *Megasphaera elsdenii* entre otras que utilizan azúcares simples y esqueletos carbonados mientras que las especies degradadoras no. Y para el tiempo de incubación dado, es factible que esta microbiota fuese amilolítica y aletargada la actividad celulolítica por una posible disminución de pH (Zhou et al., 2015). Esto es respaldado por la adaptación de la muestra en el pre experimento y la consistencia en la producción de gas. Donde se explicará más adelante que el efecto de los tratamientos también afectó a la producción de gas de manera positiva.

Para la fracción soluble de heno de *Morus alba*, la desaparición también disminuyó, pero solo significativamente para el tratamiento a 3 horas de infusión y la disminución para el tratamiento a 6 horas de infusión fue mínima. Lo que expresa una buena utilización del nitrógeno de la fracción soluble a 6 horas de infusión, mientras que se presentó una asincronía al administrar proteína soluble al mismo tiempo del maíz o a las 3 horas post ofrecimiento, esto puede ser explicado porque la microbiota utilizó el nitrógeno reciclado en el rumen lo cual indica un desperdicio de nitrógeno dietario, así como únicamente una sobrevivencia pero no una verdadera utilización de los metabolitos disueltos para producir los ácidos grasos (Stefanski et al., 2020).

En cuanto a la desaparición del maíz, no se vio afectada por la incorporación de una interacción de energía y proteína en sincronía rápida. No obstante, se observa en el cuadro 2, que la desaparición también disminuye en la interacción de infusión simultánea como de la hora 3 de infusión, pero aumentó para el tratamiento a 6 horas de infusión. Lo que señala que existe una mejor utilización del almidón al incorporar la una porción de proteína verdadera después de 6 horas de fermentación del maíz molido en rumen, esto por una mejor aceptación de la proteína en las bacterias amilolíticas y un tamaño de partícula pequeño (Remond et al., 2004). Esto es consistente con los resultados de Sang-Bum y col. (2019) cuando encontraron que la administración de proteína de suero soluble con almidón –en esas condiciones– generó un aumento de la fermentación ruminal por aumento de la población microbiana, aunque el almidón no sufrió mejor digestión en el intestino, lo que repercute en la posible existencia de una necesidad nutricional para la microbiota y además, contemplar por separado, una administración de glucosa al intestino.

El comportamiento que se observó en el presente estudio con relación a la utilización de únicamente carbohidratos estructurales con no estructurales generó un choque, ya que disminuyó la desaparición en ambas perspectivas, aunque estadísticamente no es afectada la desaparición del maíz con o sin el sustrato, se aprecia en el cuadro 2 un cambio y para la perspectiva del sustrato, las bacterias celulolíticas si bajan su actividad con la adición tajante de maíz (Alegre et al, 2013), debido que la adaptación de la muestra estaba con mayor potencial amilolítico, esto por la brusca disminución de la desaparición del sustrato y la desaparición moderada del maíz molido (cuadro 2), lo que puede representar que aumentar el índice de sincronía ayuda a adaptar a la microbiota a distintos tipos de ambientes.

La desaparición de la materia orgánica fue similar entre sí, aunque no hay diferencia entre sí, se aprecia que incluso la desaparición de la materia orgánica para el tratamiento a 6 horas fue mayor que de los otros 2 tratamientos. Aunque no fue así para los datos de desaparición de la fibra neutro detergente. Lo que mantiene el postulado de la dificultad de los microorganismos para degradar la pared celular,

lo cual es coherente con las recomendaciones de Pedraza (1998) al sugerir comparar la materia orgánica junto con la materia seca ya que solo este último puede dirigir conclusiones inadecuadas en la toma de decisiones.

### **5.2.2. Producción de gas**

La producción de gas mantuvo una linealidad exponencial a lo largo de toda la incubación, debido a que el tiempo de incubación fue corto a pesar que se esperaban degradaciones rápidas. El sustrato con únicamente maíz generó diferencia pero negativa (cuadro 3), el cual da congruencia a los resultados de desaparición ya que la actividad de la microbiota tanto amilolítica como celulítica fue mermada por un cambio brusco del tipo de fermentación (Wittwer, 2010; Zhou et al, 2015), también hubo una diferencia negativa del tratamiento a 6 horas de infusión con respecto a la morera incubada por sí sola (cuadro 3) donde este resultado puede ser explicado por 2 razones, la cantidad de carbohidratos fácilmente fermentables del almidón de maíz o porque este carbohidrato si está adaptado en rumen. A pesar de que la fracción soluble de la morera también posee carbohidratos, pero en menor cantidad y de diferente composición bioquímica, también puede generar energía si esa fuese la limitante (Dean, 2015).

Los resultados que respaldan la manipulación de la microbiota ruminal se robustece al presentar en este estudio que la producción de gas del OM-22 –por separado– como su desaparición fueron de altos resultados (20.47ml y 56.67 % respectivamente) (cuadro 2 y 3), así como la producción de gas y la desaparición del maíz fueron altos (24.0 ml y 77.33% respectivamente) y con los resultados de Zhou y col. (2018) donde mostraron el efecto positivo de la dieta sincrónica de infusión en las primeras 6 horas, lo que sugiere que la microbiota presente en el momento del estudio, estaba preparada tanto para la degradación celulolítica como amilolítica.

La información sobre el impacto de la fracción soluble de heno de morera con respecto a los dos tipos de materiales más comúnmente utilizados (pasto de corte y maíz molido) fue que esta porción mayoritariamente nitrogenada –morera– genera

una mejor utilización del almidón, ya que se observó mayor desaparición del maíz al realizar la interacción en el tratamiento a 6 horas de infusión como mayor producción de gas en relación a los otros dos tratamientos y sin diferencia estadística entre este tratamiento con respecto a las producciones de gas del maíz y Cuba OM-22 incubados por separado (cuadro 2).

El efecto del tratamiento a 6 horas de infusión se aprecia en la gráfica de producción acumulada (figura 2), donde mantuvo –desde el inicio– el patrón de los otros dos tratamientos, pero en mayor cantidad de gas, la adaptación de la microbiota a la interacción a 6 horas se aprecia por la misma tendencia de comportamiento con respecto a la producción de gas del maíz y del OM-22 incubados por separado.

La determinación dada por la regresión lineal en función del tiempo, da los resultados establecidos por el paradigma (Schmidek et al., 2000), el  $R^2$  para la fracción soluble y el maíz incubados por separado ( $r^2= 0.88$  y  $0.86$  respectivamente) sugiere que puede estar interviniendo otra variable no contemplada para estos dos escenarios.

### **5.2.3. Cinética de degradación**

La modelación realizada con la ecuación exponencial fue realizada ya que, en los resultados crudos, mantuvo la linealidad exponencial. Sumado al hecho que efectivamente la degradación tendría que ser rápida, por lo que ya en la modelación de la predicción de la degradación efectivamente fue no lineal, acentuando el cambio de velocidad (figura 4), esto puede ser debido al aporte de estos materiales forrajeros de rápida degradación contemplando el tiempo de retraso del sustrato y con inóculo adaptado (Bruni & Chilibroste, 2001; Dean, 2015). Pero, aunque se generaron resultados que apoyan la rápida degradación de la fracción soluble, no toda esta se degradó, lo que sugiere que al menos no toda la porción soluble se degrada rápidamente, siendo esta porción, una más que varía en presencia de la fracción insoluble.

La fracción soluble a 6 horas de infusión generó degradaciones totales en aproximadamente 1.90 horas y 2.02 horas para la morera incubada por separado. Mientras que se tardó 4.22 y 4.31 horas para las dietas asincrónicas, 0 y 3 horas de infusión respectivamente, lo que, dependiendo del microbiota ruminal, el tiempo de retraso al ser tan largo influyó en el desprendimiento generado de la fracción soluble da la posibilidad de que esta microbiota utilice estos nutrientes para sus actividades metabólicas (Belanche et al., 2012).

La diferencia entre la cinética de degradación de cada tratamiento sobre la fracción soluble, es marcada. Explicada probablemente por efecto de la sincronización, esta posible explicación se respalda por los resultados sobre el tratamiento a 3 horas de infusión donde en todos los parámetros, genera resultados insatisfactorios, incluso más que en la infusión simultánea (Valkeners et al., 2004) donde podría explicar que no en todas las dietas con un grado de sincronía genera los mejores resultados.

Los resultados de la cinética muestra una posible razón de los resultados exorbitantes del maíz en la producción de gas del presente estudio, la alta velocidad de fermentación de carbohidratos no estructurales genera altas producciones de gas y degradación del maíz, pero con el riesgo de una acidosis ruminal (Calsamiglia & Ferret, 2002). La velocidad de la producción de gas se justifica para el OM-22 por sí solo por la adaptación microbiana celulolítica anteriormente mencionada, para la velocidad del tratamiento a 6 horas puede ser explicado por la sincronización realizada, y para la fracción soluble, aunque en ausencia de una sincronización, la velocidad de utilización de carbohidratos es alta por su misma presencia y posible preferencia (Constanza et al., 2015).

Aunque si tomando al tratamiento a 6 horas como dieta sincrónica y comparándola con la dieta convencional de pasto-maíz como asincrónica, los resultados de desaparición como de producción de gas concuerdan, no obstante, en la gráfica de esta dieta sincrónica, género picos negativos más pronunciados (figura 3.1.). Y junto con los resultados de baja desaparición para el sustrato, la sincronización realizada no fue obtenida con un cien por ciento de éxito, lo que

sugiere más investigación al respecto y especialmente interviniendo la variable respuesta de síntesis de proteína microbiana y de la cuantificación del complejo enzimático (Estrada et al., 2009; Hall & Huntington, 2008; Yang et al., 2010; Zhang et al., 2020).

## VI. CONCLUSIONES

- Se especula que no hubo utilización completa de esta porción de la morera usando 24 horas de incubación por la revisión de la literatura. Pero el tiempo para una degradación efectiva a pasaje lento fue de 2.02 y 1.90 horas.
- Los valores de producción de gas como de desaparición de la materia seca son afectados según el modo de interacción de los distintos materiales alimenticios en la incubación *in vitro*. Generando los mejores resultados al inocular la proteína de morera con 6 horas de fermentación del almidón y contemplando el tiempo de retraso del sustrato.
- La sincronización rápida lograda en este estudio dio resultados satisfactorios en mayor producción de gas, alta desaparición de la fracción soluble del heno de morera como del grano de maíz molido y mejor adaptación de la microbiota según el carbohidrato a degradar.
- La desaparición de la materia seca y orgánica del Cuba OM-22 fue afectada negativamente con un intento de sincronización.

## VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda suplementar al rumiante con heno de morera a 6 horas después del ofrecimiento del grano de maíz molido.
- Se recomienda contemplar el ambiente ruminal en la evaluación de pastos y forrajes para alimentación.
- Seguir con las investigaciones sobre la ecología microbiana ruminal.

## VIII. RESUMEN

Los materiales forrajeros para alimentación de animales rumiantes son necesarios para mejorar el rendimiento productivo. El aprovechar estos recursos, requiere medir las características que influyen en el proceso de alimentación y nutrición. Entre estas características se encuentra su interacción con el complejo microbiano del rumen y la velocidad de degradación de la porción soluble. Ya que al conocer esta información se puede realizar estrategias de alimentación que permitan manipular los procesos microbiológicos ruminales. Los cuales pueden repercutir en la producción, rendimiento y en la reducción de metano a nivel ruminal. Entre los materiales forrajeros de gran potencial para la alimentación animal está *Morus alba*. Además de su amplia utilización en los ambientes tropicales, posee buenos valores de porción soluble. Pero a pesar que se ha estudiado ampliamente, aun no se evalúa la degradación ruminal de la porción soluble en distintos ambientes ruminales. Por lo que este trabajo busca identificar los valores de degradación en dicha especie utilizando la técnica de producción de gas *in vitro* con curva de desaparición. Los datos obtenidos generaron diferencia en los mililitros de gas como en la desaparición de la materia seca. Donde los mejores valores obtenidos de gas y de desaparición a 24 horas de incubación fueron con la administración de heno de hoja de *Morus alba* a 6 horas de fermentación del maíz, utilizando como sustrato el pasto OM-22. Arrojando valores de 27% de fracción soluble, 23.63% de porción soluble rápidamente degradable y con un 86% degradado en 3 horas.

## SUMMARY

Forage materials for feeding ruminant animals are very useful for productive performance. To take advantage of these resources, it is necessary to measure the characteristics that influence the feeding and nutrition process. Among the characteristics that influence these processes is their interaction with the microbial complex of the rumen, such as the rate of degradation of the soluble portion. Since knowing this information, feeding strategies can be carried out that allow manipulating the processes that take place in the rumen. Which can affect the production, yield and the reduction of methane at the ruminal level. Among the forage materials with great potential for animal feed is *Morus alba*. In addition, it's wide use in tropical environments, it has good values of soluble portion. But although it has been extensively studied, the ruminal degradation of the soluble portion in different ruminal environments has not yet been evaluated. Therefore, this work seeks to identify the degradation values in this species using the *in vitro* gas production technique with a disappearance curve. The data obtained generated a difference in the milliliters of gas as well as in the disappearance of the dry matter. Where the best values obtained for gas and disappearance at 24 hours of incubation were with the administration of *Morus alba* leaf hay at 6 hours of maize fermentation, using OM-22 grass as a substrate. Throwing values of 27% of soluble fraction, 23.63% of rapidly degradable soluble portion and with 86% degraded in 3 hours.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alegre S., Remuñan M.E. & Sarralde L. (2013). Evaluación de sustancias con potencial para prevenir la acidosis ruminal: Técnica de fermentadores *in vitro*. (tesis de pregrado). Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
- Animasaun, D. A., Rathod, H. P., & Krishnamurthy, R. (2018). Analysis of Forage Yield and Nutritional Contents of Pennisetum glaucum (pearl millet) and Pennisetum purpureum (Napier grass) accessions. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 52(4).
- Anrique R.G. (2010). Metabolismo ruminal de los hidratos de carbono. Contreras P.A. & Noro M. (Eds.) Rumen: morfofisiología, trastornos y modulación de la actividad fermentativa (p26. Cap3.).Valdivia, Chile: América.
- Atencio, L. M., Mejía, S., & Torres, J. C. (2014). Comportamiento fisiológico de gramíneas forrajeras bajo tres niveles de humedad en condiciones de casa malla. *Temas agrarios*, 19(2), 244-258.
- Assis J.R., Fernandez G., Mousquer C.J., Nunes D. Días M., Padilha V., Olini L. & Balkau C.G. (2021). Modelos matemáticos aplicados a cinética de digestão ruminal y producción de gas *in vitro*. Cardoso R., Quintela J. & Oliveira R. (Eds.) Inovações na Nutrição Animal: desafios da produção de qualidade. (p165. Cap11.) Guajura SP Brasil: Editora Científica Digital.
- Belanche, Doreau M., Edwards J.E., Moorby J.M., Pinloche E., Newbold C.J., (2012). Los cambios en la microbiota del rumen debido al tipo de carbohidratos y el nivel de proteína ingerido por el ganado lechero están asociados con cambios en la fermentación del rumen, *The Journal of Nutrition*, 142 (9), 1684–1692.



- Benavides J., Hernández I., Ésquivel J. Vasconcelos J., González J. & Espinosa E. (2002). Bromatological composition and degradation rate of mulberry in goats. Sánchez M.D. (Eds.) Mulberry for animal production. (p209). Roma, Italy: FAO. ISBN 92-5-104568-2
- Beuvink, J. M. W. (1993). *Measuring and modelling in-vitro gas production kinetics to evaluate ruminal fermentation of feedstuffs*. Wageningen University and Research.
- Blas, C., García-Rebollar, P., Cambra-López, M., & Torres, A. G. (2008). Contribución de los rumiantes a las emisiones de gases con efecto invernadero. *XXIV Curso de especialización FEDNA. Editorial FEDNA. Madrid*, 121-150.
- Bolívar, D., Echeverry, J. J., Restrepo, L. F., & Cerón Muñoz, M. F. (2009). Productividad de vacas Jersey, Holstein y Jersey/Holstein en una zona de bosque húmedo montano bajo (Bh-MB). *Livestock Research for Rural Development*, 21(6).
- Boschini-Figueroa, C., Dormond, H., & Castro, A. (1998). Producción de biomasa de la morera (*Morus alba*) en la Meseta Central de Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana*, 31-40.
- Boschini, C. (2001). Degradabilidad in situ de la materia seca, proteína y fibra del forraje de morera (*Morus alba*). *Agronomía Mesoamericana*, 79-87.
- Boschini-Figueroa, C. (2006). Nutrientes digeribles, energía neta y fracciones proteicas de la morera (*Morus alba*) aprovechables en vacas lecheras. *Agronomía Mesoamericana*, 17(2), 141-149.



- Bruni, M. D. L. A., & Chilibroste, P. (2001). Artículo Invitado: Simulación de la digestión ruminal por el método de la producción de gas. *Arch. Latinoam. Prod. Anim*, 9, 1-43.
- Cabral, Í. D. S., Azevêdo, J. A. G., Pina, D. D. S., Pereira, L. G. R., Fernandes, H. J., de Almeida, F. M., ... & Cirne, L. G. A. (2019). Evaluation of models utilized in in vitro gas production from tropical feedstuffs. *Semina: Ciências Agrárias (Londrina)*, 40(1), 443-455.
- Cajarville C. & Repetto J.L. (2005). Uso de concentrados para el mejor aprovechamiento de los concentrados. XXXIII Jornada Uruguaya de Buiatría. Departamento de nutrición animal, Facultad de Veterinaria, UdelaR.
- Calsamiglia, S., & Ferret, A. (2002). Fisiología ruminal relacionada con la patología digestiva: acidosis y meteorismo. XVIII Curso de Especialización. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA). Eds. CP Ga Rebollar, GG De Blas y Mateos. Madrid, España.
- Cobos, M. A., & Yokoyama, M. T. (1995). *Clostridium paraputrificum* var. *Ruminantium*: Colonisation and degradation of shrimp carapaces. In *Workshop on Rumen Ecology Research Planning, Addis Ababa, Ethiopia. 13-18 Mar 1995*. ILRI.
- Constanza L., Antolinez D., Bohórquez J. & Corredor A. (2015). *Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta*. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá, Colombia.



- Corrales, L. C., Antolinez Romero, D. M., Bohórquez Macías, J. A., & Corredor Vargas, A. M. (2015). Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. *Nova*, 13(24), 55-81.
- Dean D. (2015). *Nutrir adecuadamente al rumen para mejorar la respuesta productiva del animal*. Fundación GIRARZ, Zulia Venezuela.
- Estrada-Liévano, J. M., Sandoval-Castro, C. A., Ramírez-Avilés, L., & Capetillo-Leal, C. M. (2009). In vitro fermentation efficiency of mixtures of *Cynodon nlemfuensis*, *Leucaena leucocephala* and two energy sources (maize or sugarcane molasses). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10(3), 497-503.
- Firkins, J. L. (1996). Maximizing microbial protein synthesis in the rumen. *The Journal of Nutrition*, 126(4), 1347S-1354S.
- France, J., Dhanoa, M. S., Theodorou, M. K., Lister, S. J., Davies, D. R., & Isac, D. (1993). A model to interpret gas accumulation profiles associated with in vitro degradation of ruminant feeds. *Journal of theoretical biology*, 163(1), 99-111.
- Guada, J. A. (1996). Características del sistema de Cornell (CNCPS) como modelo de valoración proteica y energética para rumiantes. *XII Curso de Especialización FEDNA, Madrid*, 7.
- Hall, M. B., & Huntington, G. B. (2008). Nutrient synchrony: Sound in theory, elusive in practice. *Journal of Animal Science*, 86(14), E287-E292.
- Huahuarunta Noriega, J. (2015). Determinación del valor nutritivo de la morera (*Morus alba*) a los 45 y 60 días de rebrote para su uso en la alimentación



animal. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Cusco Perú.

Islam, M., & Lee, S. S. (2018). Recent application technologies of rumen microbiome is the key to enhance feed fermentation. *Journal of Life Science*, 28(10), 1244-1253.

Kelly A.M. & Basford K.E. (2000). Pattern Analysis in Grassland And Animal Production Systems. t Mannelje L. & Jones R.M. (Eds.). Field and Laboratory Methods for Grassland and Animal Production Research. (p9. Cap2.) Typeset by AMA DataSet Ltd, UK. Printed and bound in the UK by the University Press, Cambridge. ISBN 0 85199 351 6.

Kuoppala, K., Jaakkola, S., Garry, B., Ahvenjärvi, S., & Rinne, M. (2021). Effects of faba bean, blue lupin and rapeseed meal supplementation on nitrogen digestion and utilization of dairy cows fed grass silage-based diets. *Animal*, 15(7), 100300.

Lara, P. E., Canché, M. C., Magaña, H., Aguilar, E., & Sanginés, J. R. (2009). Producción de gas in vitro y cinética de degradación de harina de forraje de morera (*Morus alba*) mezclada con maíz. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 43(3), 273-279.

Li, F., Zhou, M., Ominski, K., & Guan, L. L. (2016). Does the rumen microbiome play a role in feed efficiency of beef cattle?. *Journal of Animal Science*, 94(6), 44-48.

Martínez S. J. (2005). *Implementación de la técnica de producción de gas in vitro con heces vacunas como inóculo y su empleo para evaluar el follaje de*



*algunas leguminosas arbustivas*. (Tesis de maestría). Universidad de Camaguey, Cuba.

Martín, G. J., Noda, Y., Pentón, G., García, D. E., García, F., González, E., & Arece, J. (2007). La morera (*Morus alba*, Linn.): una especie de interés para la alimentación animal. *Pastos y Forrajes*, 30, 1-1.

Maynard L. (1937). *Animal Nutrition*. (1era ed.). Cornell University, NY and London. Mcgraw-hill Book Company. Inc.

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. *British Journal of Nutrition*, 49(1), 119-127.

Menke K. H. & Steingass h. (1979). *Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis in vitro gas production using rumen fluid*. *Animal Research and Development*. 28: 7-55.

Menke K. H., Raab I., Salewski A., Steingass H., Fritz D. and Schneider W. (1979) *The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro*. University of Hohenheim, West Germany.

Morales, A. G., Vibart, R. E., Li, M. M., Jonker, A., Pacheco, D., & Hanigan, M. D. (2021). Evaluation of Molly model predictions of ruminal fermentation, nutrient digestion, and performance by dairy cows consuming ryegrass-based diets. *Journal of dairy science*, 104(9), 9676–9702.



Ørskov, E. R., & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92(2), 499-503.

Palma A. & Navarro R. (2018). Caracterización de dos cultivares de pennisetum sp. cuba ct-169 (Pennisetum purpureum x Pennisetum tiphoides) y cuba om-22 (Pennisetum purpureum x Pennisetum glaucum) managua. trabajo de graduación universidad nacional agraria facultad de ciencia animal departamento de zootecnia.

Paradiso R., Borriello G., Bolletti S., Solzano A., Cimmino A. Galiero G., Fusco G., Carlo E. & Campanile G. (2021). Diferentes proporciones de carbohidratos no estructurales / proteínas crudas (NCS / CP) en la dieta dan forma a la microbiota gastrointestinal del búfalo de agua. *Vet Sci*, 8 (6), 96. doi: 10.3390/vetsci8060096

Pedraza M. (1998). Use of in vitro gas production technique to assess the contribution of both soluble and insoluble fractions on the nutritive value of forages. Tesis de maestria, Universidad de Camagüey, Cuba.

Peripolli V, Prates ER, Barcellos JOJ, McManus CM, Wilbert CA, Braccini Neto J, Camargo CM and Lopes RB. (2014). Models for gas production adjustment in ruminant diets containing crude glicerol. Departamento de Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

Pulido R. (2010). Dinamica del nitrogeno amoniacal y pH ruminales en vacas a pastoreo. Contreras P.A. & Noro M. (Eds.) Rumen: morfofisiología, trastornos y modulación de la actividad fermentativa (p63. Cap6.). Valdivia, Chile América.



- Ramírez-Bribiesca, J. E. (2018). Eventos químicos-fisiológicos del metano en los rumiantes. *AgroProductividad*, 11(2).
- Relling A.E. & Mattioli G.A. (2003) *Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes*. Editorial EDULP. UNLP. Fecha de recuperación 12 de mayo del 2020
- Remond, D., Cabrera-Estrada, J. I., Champion, M., Chauveau, B., Coudure, R., & Poncet, C. (2004). Effect of corn particle size on site and extent of starch digestion in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87(5), 1389-1399.
- Rodríguez, R. y Sosa, Areadne y Rodríguez, Yeni (2007). La síntesis de proteína microbiana en el rumen y su importancia para los rumiantes. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 41(4), 303-311.
- Sang B , Won K., Sung J., Kyung H. & Hong G. (2019). Impactos de la proteína de suero en la digestión del almidón en el rumen y el intestino delgado de novillos. PMID: 31333867. PMCID: PMC6582930. DOI: 10.5187/jast.2019.61.2.9861001
- Santini F.J. (2014) Conceptos básicos de la nutrición de rumiantes. INTA (Eds.) *Nutrición Animal Aplicada* (p9. cap1.) Buenos Aires, Argentina: EEA Balcarce y la facultad de ciencias agrarias, UNMdP.
- Schmidek A., Takahashi R., Nuñez A. & Resende K.T. (2002). Bromatological composition and degradation rate of mulberry in goats. Sánchez M.D. (Eds.) *Mullberry for animal production*. (p209). Roma, Italy: FAO. ISBN 92-5-104568-2



- Schofield, P., Pitt, R. E., & Pell, A. N. (1994). Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. *Journal of Animal Science*, 72(11), 2980–2991.
- Schofield, P., & Pell, A. N. (1995). Validity of using accumulated gas pressure readings to measure forage digestion in vitro: a comparison involving three forages. *Journal of Dairy Science*, 78(10), 2230–2238.
- Schmidek, Anita & Takahashi, R. & Resende, Kleber. (2000). Evaluation of Potential and Effective Degradation and Fractions of Mulberry Clones in Goats.
- Shen W., Jiang Y., Wang J., Bu D., Sun P., Jin E., Bao W., Shi H. (2012). Diseño y prueba de un sistema de simulación de rumen dividido sólido-líquido-gas. *Revista China de Ingeniería Agrícola*. 28(3) Doi: 10.3969/j.issn.1002-6819.2012.03.004.
- Sinclair, L., Garnsworth, P., Newbold, J. y Buttery, P. (1993). Efecto de la sincronización de la tasa de liberación de nitrógeno y energía dietética sobre la fermentación ruminal y la síntesis de proteínas microbianas en ovejas. *The Journal of Agricultural Science*, 120 (2),251-263. doi:10.1017/S002185960007430X
- Sniffen, C. J., & Robinson, P. H. (1987). Protein and fiber digestion, passage, and utilization in lactating cows. Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations. *Journal of Dairy Science*, 70(2), 425–441.
- Stefanski, T., Ahvenjarvi, S., Vanhatalo, A., & Huhtanen, P. (2020). Ruminant metabolism of ammonia N and rapeseed meal soluble N fraction. *Journal of Dairy Science*, 103(8), 7081-7093. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17761>



- Stern M.S., Calsamiglia S. y Endres M.I. (1994). Dinámica del metabolismo de los hidratos de carbono y del nitrógeno en el rumen. University of Minnesota, FEDNA.
- Theodorou M. K., Barbara A., Williams A., Dhanoa M.S., McAllana A.B. & France J. (1994). *A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds*. Institute of Grassland and Environmental Research, UK
- Tilley JMA & Terry RA. (1963). Una técnica de dos etapas para la digestión *in vitro* de cultivos forrajeros. *J. br. grassland soc*, 18, 104-111, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x>
- Tamminga S., Vuuren A.M., Der koelen C.J., Ketelaar R.S. & Vandertogt V. (1990). Ruminal behaviour of structural carbohydrates, non-structural carbohydrates and crude protein from concentrate ingredients in dairy cows. Department of Animal Nutrition, Wageningen Agricultural University, Haagsteeg 4, NL 6708 PM Wageningen, Netherlands
- Valkeners, D., Théwis, A., Piron, F., & Beckers, Y. (2004). Effect of imbalance between energy and nitrogen supplies on microbial protein synthesis and nitrogen metabolism in growing double-muscléd Belgian Blue bulls. *Journal of Animal Science*, 82(6), 1818–1825.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583–3597.
- Van Milgen, J., Murphy, M. R., & Berger, L. L. (1991). A compartmental model to analyze ruminal digestion. *Journal of Dairy Science*, 74(8), 2515–2529.



- Weimer P.J. (2015). Ruminal fermentations to produce liquid and gaseous fuels. Kumar P. A., Devki N.K. Rameshwar S. (Eds.) Rumen Microbiology: From Evolution to Revolution. (p267. Cap4.3) New York Dordrecht London, India: Springer New Delhi Heidelberg ISBN978-81-322-2400-6.DOI:10.1007/978-81-322-2401-3.
- Wittwer F. (2010). Análisis del líquido ruminal como ayuda diagnóstica en alteraciones en el rumen. Contreras P.A. & Noro M. (Eds.) Rumen: morfofisiología, trastornos y modulación de la actividad fermentativa (p104. Cap10.).Valdivia, Chile: América.
- Wayne T. (1995). Environmental and housing effects on feedlot cattle performance. Wayne T. & Cecava C. (Eds.) beef cattle, Feeding and nutrition. (p300. Cap19.) West Lafayette, Indiana: Academic Press, INC.
- Yang, Ji-Young & Seo, Julie & Kim, Hong Joo & Seo, S. & Ha, Jong. (2010). Synchrony: Is it a Suitable Strategy to Improve Nitrogen Utilization and Animal Performance? *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. Doi: 23. 10.5713/ajas.2010.r.04.
- Zhang, J., Zheng, N., Shen, W., Zhao, S. y Wang, J. (2020). El grado de sincronía de la energía dietética y la liberación de nitrógeno influyen en la comunidad microbiana, la fermentación y la síntesis de proteínas en un sistema de simulación de rumen. *Microorganismos*, 8 (2), 231.
- Zhou, M., Peng, Y. J., Chen, Y., Klinger, C. M., Oba, M., Liu, J. X., & Guan, L. L. (2018). Assessment of microbiome changes after rumen transfaunation: implications on improving feed efficiency in beef cattle. *Microbiome*, 6(1), 62.



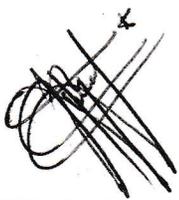
Zhou M., Chen Y. & Guan L.L. (2015). Rumen Bacteria. Kumar P. A., Devki N.K. Rameshwar S. (Eds.) Rumen Microbiology: From Evolution to Revolution. (p80. Cap2.1) New York Dordrecht London, India: Springer New Delhi Heidelberg ISBN978-81-322-2400-6.DOI:10.1007/978-81-322-2400-3.



**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE ZOOTECNIA**

**DETERMINACIÓN DE LA DESAPARICIÓN RUMINAL *in vitro* DE LA  
FRACCIÓN SOLUBLE DE HOJA DE MORERA (*Morus alba*)**

f.   
Carlos Ernesto Sequén Acevedo

f.   
Lic. Zoot. Miguel Ángel Rodenas  
Argueta  
ASESOR PRINCIPAL

f.   
M.Sc. Sergio Antonio Hernández de la  
Roca  
ASESOR

f.   
Dr. Hugo René Pérez Noriega  
EVALUADOR

**IMPRÍMASE**

f.    
M.A. Rodolfo Chang Shum  
DECANO