

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE CIENCIAS AGRICOLAS



INFLUENCIA DE LA SUPLEMENTACION DE METIONINA CON
DISTINTOS NIVELES DURANTE LA FASE DE CRECIMIENTO EN
NOVILLOS HOLSTEIN:COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO,ENERGIA
DE LA DIETA, CONCENTRACION PLASMATICA DE AMINOACIDOS Y
FUNCION DIGESTIVA.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

PRESENTA:

RAMSES CARRASCO JIMENEZ

DIRECTORES DE TESIS:

Ph.D. Richard A. Zinn

Dra. Noemí G. Torrentera Olivera

ESTAS TESIS FUE REALIZADA BAJO LA DIRECCION DEL CONSEJO
PARTICULAR INDICADO, HA SIDO APROVADA POR EL MISMO Y
ACEPTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS.

Mexicali, Baja California 20 de Diciembre de 2012.

Ph.D. Richard A. Zinn
CoDirector de Tesis.

Dra. Noemí Torrentera Olivera.
Codirectora de Tesis.

Dr. Alejandro Plascencia Jorquera.

Dr. Enrique Álvarez Almora.

Dr. Martin Montaña Gómez.

AGRADECIMIENTOS.

- Agradezco mi madre por ser la persona que me ha brindado todo su apoyo a través de todos mis estudios, siempre me ha comprendido y ha sido una magnífica amiga, la cual siempre ha sabido guiarme en la vida otorgándome parte de su sabiduría.
- Agradezco a mi maestra y codirectora Noemí Torrentera Olivera, que desde que inicie mis estudios de maestría siempre me ha apoyado y ha creído en mí, que además de ser una excelente maestra es una mejor amiga, la cual compartió la inmensidad de conocimientos que tiene.
- Agradezco a mi director de tesis el Ph.D. Richard Zinn por la inmensa oportunidad que me dio de poder ser parte del grupo de estudiantes que les brinda sus conocimientos y recursos, agradezco las atenciones y ni que decir de los conocimientos y la forma de ver las cosas cada vez que realizamos las reuniones de estudio.
- Agradezco a los colaboradores de mi trabajo de tesis les doy las gracias, Dr. Martín Montaña Gómez, Dr. Alejandro Plascencia Jorquera y Enrique Álvarez Almora, por haber apoyado en la realización de mis trabajos de investigación.

- Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico que me brindó durante el inicio, desarrollo y finalización de mi doctorado.

DEDICATORIA.

- Doy gracias a Dios por haberme guiado por el camino correcto haciéndome ver mis errores y aciertos como persona, por darme la fuerza para continuar siempre adelante.
- A ti Madre por dedico toda mi formación estudiantil por haberme brindado todo tu apoyo y consejos de como encaminarme a ser cada vez una mejor persona, en lo profesional y en la vida.
- A mi familia completa, por brindarme su apoyo y amistad durante la realización de mis estudios.
- Y les agradezco y les dedico también mi trabajo a todos aquellos que directa o indirectamente ayudaron y me apoyaron durante mis estudios e investigación.

CONTENIDO.

	Pág.
CARTA AL COMITÉ.....	I
AGRADECIMIENTO.....	II
DEDICATORIAS.....	IV
CONTENIDO.....	V
LISTA DE CUADROS.....	VI
RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	4
INTRODUCCIÓN.....	7
HIPOTESIS.....	10
REVISIÓN DE LITERATURA.....	11
Cinética ruminal en la degradación de proteína.....	11
Metabolismo de nitrógeno en rumen.....	12
Síntesis de proteína microbiana.....	13
Importancia de la proteína de escape.....	15
Proteína metabolizable.....	17
Utilización de aminoácidos.....	18
Requerimientos de aminoácidos en becerros en crecimiento.....	21
Aminoácidos protegidos de la degradación ruminal.....	24
MATERIALES Y MÉTODOS.....	28

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
CONCLUSIONES.....	47

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Composición de las dietas experimentales consumidas por los novillos (Exp. 1 y 2).....	32
Cuadro 2. Influencia del nivel de suplementación de metionina y lisina en el crecimiento de novillos y energía neta (ne) valor neto de la dieta (exp. 1).....	37
Cuadro 3. Perfil de aminoácidos indispensables en plasma de novillos Holstein por la influencia de la suplementación con cinco niveles de metionina y lisina.....	41
Cuadro 4. Influencia de suplementación con cinco niveles de metionina y lisina sobre las características ruminales y del tracto total digestivo en novillos Holstein (exp.2).....	43
Cuadro 5. Suplementación de amino ácidos indispensables a intestino delgado en novillos Holstein por la influencia de la suplementación de cinco niveles de metionina y lisina (exp. 2).....	45

LITERATURA CITADA.....	48
------------------------	----

RESUMEN.

Actualmente en el suroeste de Estados Unidos y norte de México los becerros Holstein y otras razas se alimentan con dietas en base a maíz, durante las diferentes etapas de crecimiento, teniendo entre 12 y 13% de proteína cruda.

Las dietas en base a maíz hojueleado conteniendo urea (0.44%) y harina de pluma (4.15%) muestran tener una deficiencia en metionina, lisina y treonina, aunado a esto los bajos consumos de alimento en ganado joven (120-150kg) maximizan las deficiencias en estos aminoácidos, por ello una dieta con un mayor contenido de proteína cruda y proteína metabolizable puede mostrar un incremento en la eficiencia alimenticia (Dicostanzo 2007).

Para realización de este estudio, se llevaron a cabo dos experimentos uno donde se evaluó la influencia de la suplementación con distintos niveles de metionina sobre el comportamiento productivo y el segundo donde se evaluó la influencia sobre las características digestivas durante los primeros 112d de engorda.

Para la realización del primer experimento, fueron sometidos ciento cincuenta y cuatro becerros Holstein con un peso promedio de 120.12 ± 4.85 kg distribuidos al azar en cinco tratamientos:

- 1) Testigo (dieta basal) usando urea como única fuente de N suplementado (0% Smartamine® y 0% de AminoShure®).
- 2) 0.032% Smartamine®.

3) 0.064% Smartamine®.

4) 0.096% Smartamine®.

5) 0.128% Smartamine®.

Constando los últimos cuatro tratamientos con la inclusión de distintos niveles de metionina (Smartamine®) y un nivel fijo de lisina (AminoShure®) de 1.01%.

Se realizaron cuatro pesajes (28d, 56d, 84d y 112d) y se tomaron muestras de sangre vía jugular, 1 animal/por corral, 1 por tratamiento, el día 56 y 112 de la prueba.

Para la realización del segundo experimento, se utilizaron cinco novillos Holstein de peso promedio de 188 ± 7.15 kg, provistos de cánulas en rumen y duodeno proximal, donde se utilizó un cuadro latino 5X5 para evaluar las características metabólicas al suplementar distintos niveles de metionina. Los tratamientos fueron los mismos que en el experimento 1, con la diferencia que se incorporó óxido crómico como marcador.

La influencia que tiene metionina sobre el comportamiento productivo no muestra efectos ($P \geq 0.05$) sobre la ganancia diaria de peso (GDP kg/d) y consumo de materia seca (CMS g/d). Durante los primeros 56 días del experimento 1 los tratamientos con 0.064% y 0.096% de inclusión de metionina en la dieta muestran un efecto lineal y cuadrático ($P \leq 0.05$), de igual forma la ENg y ENm muestran un efecto lineal ($P \leq 0.05$) y cuadrático ($P \leq 0.05$) entre lo esperado y lo observado durante el mismo periodo del experimento cuando se suplementó 0.096% de metionina en la

dieta. La concentración de metionina en plasma muestra una diferencia ($P \leq .001$), cuando se suplementó 0.128% en la dieta, observándose una mayor concentración (2.8 mmol/dL) cuando se comparó con los otros tratamientos.

En cuanto al experimento de características digestivas, la digestión ruminal de la materia orgánica (MO) mostró un efecto cuadrático ($P \leq .05$) de los tratamientos suplementados con metionina en comparación al tratamiento control. No se muestra un efecto ($P \leq .05$) de los tratamientos sobre la digestibilidad en el tracto total sobre la MO en los tratamientos con distintos niveles de metionina en comparación al grupo control, de igual manera sucedió con la eficiencia de MN, eficiencia N y la cantidad de N que fluyó a duodeno al no mostrar diferencias ($P \leq .05$) de los grupos suplementados en comparación con el grupo control. Por otro lado al suplementar diferentes niveles de metionina a intestino delgado muestra un efecto lineal y cuadrático ($P < 0.05$) cuando se compara la cantidad de metionina que fluyó a intestino delgado con el grupo control, incrementándose hasta 10.8%.

Palabras clave: niveles de metionina, comportamiento productivo, características digestivas, GDP kg/d, CMS g/d, concentraciones plasmáticas, MN, eficiencia N, N que fluye a duodeno, Smartamine®, AminoShure®.

SUMMARY.

Currently in the southwestern United States and northern Mexico Holstein calves and other breeds fed corn-based diets, at different stages of growth, having between 12 and 13% crude protein.

The Steam flaked corn-based diets containing urea (0.44%) and feather meal (4.15%) have shown a deficiency in methionine, lysine and threonine, coupled with this low feed intake in young cattle (120-150kg) maximize deficiencies in these amino acids, so a diet with a higher content of crude protein and metabolizable protein may show an increase in feed efficiency (DiCostanzo, 2007).

For the realization for this study, conducted two experiments one where we evaluated the influence of dietary methionine levels on growth performance and the second where we evaluated the influence on the digestive characteristics during the first grow-112d.

The first experiment, underwent one hundred fifty-four Holstein calves with an average weight of 120.12 ± 4.85 kg randomly distributed into five treatments:

- 1)** Control (basal diet) using urea as the sole source of N supplemented 0% Smartamine® y 0% de AminoShure ®).
- 2)** 0.032% Smartamine®.
- 3)** 0.064% Smartamine®.
- 4)** 0.096% Smartamine®.
- 5)** 0.128% Smartamine®.

The last four treatments with the inclusion of different levels of methionine (Smartamine ®) and one level of lysine (AminoShure ®) 1.01%.

There were four weighings (28d, 56d, 84d and 112d) and blood samples were taken via jugular, 1 animal / per pen 1 by treatment, 56 and 112 days of the test.

The second experiment, we used five Holstein steers average weight of 188 ± 15.7 kg, with cannulas in the rumen and proximal duodenum, where we used a 5x5 Latin square to evaluate the metabolic characteristics at different levels of methionine supplementation. The treatments were the same as in experiment 1 with the difference that joined chromic oxide as a marker.

The influence of different levels of methionine on growth performance shows no effects ($P \geq 0.05$) on average daily gain (ADG kg/d) and dry matter intake (DMI g/d). During the first 56 days of experiment 1 treatments with 0.064 and 0.096% inclusion of methionine in the diet show a linear and quadratic effect ($P \leq .05$), just as the ENg and ENm shown a linear effect ($P \leq .05$) and quadratic ($P \leq .05$) between the expected and observed during the same period of the experiment when .096% methionine supplement in the diet. The plasma concentration of methionine shows a difference ($P \leq .001$), when 0.128% supplement in the diet, with a greater concentration (2.8 mmol/dL) when compared with other treatments.

As digestive characteristics experiment, ruminal digestion of organic matter (OM) showed a quadratic effect ($P \leq .05$) treatments supplemented with different levels of methionine compared to the control treatment. There is an effect ($P \leq .05$) of the treatments on the total tract digestibility of OM in

methionine treatments compared to the control group, just as happened with the efficiency of MN, N efficiency and quantity flow-N duodenum to show no differences ($P \geq .05$) supplemented group compared to the control group. supplementation of different levels of methionine small intestine shows a linear and quadratic effect ($P < 0.05$) when compared to the amount of methionine intestine flowed with the control group, increasing to 10.8%.

Key words: methionine levels, growth performance, digestive characteristics, ADG kg/d, DMI g/d, plasma concentration, MN, N efficiency and quantity flow-N duodenum, Smartamine®, AminoShure ®.

INTRODUCCION.

En el suroeste de Estados Unidos y norte de México los becerros Holstein y las razas de carne, han sido alimentados comúnmente durante su periodo de crecimiento y finalización con dietas basadas en maíz rolado. Estas dietas contienen alrededor de 12 a 13% de proteína cruda (PC), adicionando urea a la dieta como fuente de nitrógeno no proteico (NNP) suplementado (Zinn et., al 2005). Teóricamente estas dietas reúnen los requerimientos de aminoácidos metabolizables (AAM) durante los periodos de engorda total, de alrededor de 350 d (NRC, 2000), pero estas dietas no reúnen los requerimientos de los aminoácidos metabolizables durante las primeras fases de crecimiento (112-140d; Zinn y Shen, 1998).

En la actualidad aun no se ha dado el interés suficiente a los requerimientos de aminoácidos metabolizables durante las primeras etapas de crecimiento de ganado Holstein en engorda (112d), durante esta etapa ha existido deficiencias en aminoácidos esenciales que han mostrado tener una influencia sobre parámetros como ganancia diaria de peso (ADG), consumo de materia seca (DMI), por ello ocasionando grandes perdidas económicas (Hussein y Berger., 1995; Wessel.,1997), los bajos consumos de alimento en ganado pequeño

Dentro de los requerimientos del animal existen los llamados aminoácidos limitantes, los cuales no pueden ser sintetizados por el

organismo a la velocidad y cantidad necesarios, por ello, deben ser suministrados en la dieta, en cuanto los llamados aminoácidos no esenciales los cuales no representan ningún problema ya que son elementos propios de los ingredientes de la dieta, además que el animal es capaz de sintetizarlos en su organismo, haciendo de estos últimos de menor importancia en la suplementación, resultados en estudios de estimación de requerimientos de aminoácidos y retención de nitrógeno, se han mostrado que los principales aminoácidos limitantes durante el crecimiento del ganado son la metionina como principal, y Lisina como segundo limitante (Hussein y Berger, 1995; Zinn et al., 2007).

Actualmente la utilización de harinas de pescado y soya han mostrado que cubren los requerimientos de aminoácidos en la dieta. Sin embargo, al incrementar la utilización de harina de pescado observaron un incremento en la concentración plasmática de Lisina y arginina (Zinn y Shen , 1998).

Los becerros tienen alta necesidad de proteína metabolizable (MP) y estos requerimientos que podrán ser superiores a los ofertados por los microorganismos (proteína microbial) que fluye a intestino delgado, un suplemento de proteína de escape o un ingrediente incorporado a la dieta rico en aminoácidos metabolizables seria lo ideal cuando no se han podido cubrir estos requerimientos de aminoácidos en especial al principio del periodo de crecimiento (112-140d; Sindt et al., 1993).

Por ello, el objetivo del presente estudio fue evaluar la influencia de la inclusión con cinco niveles de metionina durante los primeros 112d de engorda sobre el comportamiento productivo y características digestivas en becerros Holstein.

HIPOTESIS.

El nivel de inclusión de metionina protegida a la dieta durante los primeros 112 días de engorda afecta el comportamiento productivo y características digestivas de becerros Holstein.

REVISION DE LITERATURA.

Cinética Ruminal en la Degradación de Proteína.

La degradación ruminal de la proteína cruda del alimento es un factor importante que influye en la fermentación ruminal y suplemento de aminoácidos (AA) para el ganado, la proteína degradada en rumen (RDP) y la proteína indegradable en rumen (RUP) son dos componentes de la proteína cruda del alimento, y estas dos son separadas por sus distintas funciones (NRC, 2001).

La porción indegradable de la RUD es importante ya que esta será absorbida por el animal al fluir a intestino delgado, ya que no sufre ningún daño durante su paso por el rumen (NRC, 2001).

Existen modelos que calculan la degradabilidad de la proteína y la tasa de pasaje de la misma, unos de estos modelos es el sistema Cornell (sistema neta de carbohidratos y proteínas para la evaluación de dietas para ganado de carne) (Sniffen, 1992). En este modelo, la proteína cruda consumida proveniente del alimento se divide en las siguientes fracciones (A, B₁, B₂, B₃ y C, la fracción A, se degrada instantáneamente en el ambiente ruminal (cero sobrepaso), la fracción B₁ se degrada parcialmente en el rumen, pequeñas fracciones de esta alcanzan el tracto digestivo intestinal, donde se completa su degradación, la parte no degradable en rumen de la proteína cruda, esta conformada entonces

por las fracciones B₂, B₃ y C, esta última fracción atraviesa enteramente el sistema digestivo, sin sufrir transformación alguna.

Existen dos factores principales que afectan la cantidad de proteína cruda proveniente de la ingesta que será degradada en rumen, el primer factor es la propiedad química de esta misma, ya que esta comprendida por la fracción de proteína cruda y fuente de nitrógeno no proteico (NNP), la segunda es la porción física (NRC, 2001). Los componentes de NNP son degradados rápidamente en rumen (>300%/h) y se asume que es degradado al 100% en tiempo cero (Sniffen et al., 1992).

Metabolismo de Nitrógeno en Rumen.

Los rumiantes para llenar los requerimientos de proteína por lo general utilizan compuestos nitrogenados del alimento, la proteína sintetizada por los microorganismos y la resultante de secreciones endógenas.

La gran mayoría de los compuestos nitrogenados provenientes del alimento (proteína verdadera y NNP) son degradados en el rumen por microorganismos produciendo amoníaco, ácidos grasos volátiles y bióxido de carbono (CO₂), estos microorganismos son los responsables de las mayores transformaciones de los compuestos nitrogenados de la ración al convertirlos en amoníaco (NRC, 1985). La proteína verdadera es degradada en rumen a una porción de péptidos, aminoácidos,

amoniaco y estos compuestos a su vez son utilizados principalmente para la síntesis microbiana.

El amoniaco en el rumen interviene en procesos del nitrógeno con varias fuentes y destinos (Owens y Bergen, 1983), las fuentes incluyen;

- a) Degradación de la proteína de la dieta e hidrólisis del nitrógeno no proteico de la dieta (NNP).
- b) Degradación del protoplasma microbial.
- c) Hidrólisis de la urea en rumen.
- d) Descamación de las papilas rúmiales.

Los destinos serian;

- a) Consumo destinado a los microorganismos.
- b) Absorción a través de la pared ruminal.
- c) Flujo al abomaso y compartimientos posteriores al tracto digestivo.

Se asume que la degradabilidad de la proteína en rumen es de alrededor del 13% proveniente de los nutrientes totales (Wilkerson et al., 1993).

Síntesis de Proteína Microbiana.

La síntesis de proteína microbiana asume importancia en cuanto las necesidades o requerimientos de proteína absorbidos en intestino, ya

que las principales fuentes de estos requerimientos son la proteína microbiana y la proteína proveniente de los alimentos (NRC, 1989).

La proteína proveniente de la población microbiana y protozoaria se compone generalmente en un 80% de proteína microbiana verdadera y en un 20% de ácidos nucleicos (NRC, 1985).

Un punto importante en la síntesis de proteína microbiana es el suministro de energía necesaria proveniente principalmente de la digestión de los carbohidratos en el rumen, la cual es una fuente necesaria de energía para los microorganismos (Koenig et al., 2003). Al alimentar al ganado con grano entero (tosco) se ha observado que la tasa de fermentación en rumen del almidón se reduce, causando una reducción en la disponibilidad de la energía, por otro lado, una fermentación rápida y degradación total del almidón produce cambios en el pH ruminal, estos procesos causan una disminución en la síntesis de proteína microbiana y una baja digestibilidad de la fibra (Yang et al. 2001; Koenig et al., 2003).

La síntesis de proteína microbiana es afectada por varios factores, el principal está dado por la concentración de proteína soluble en rumen y la cantidad de materia orgánica (MO) disponible para la fermentación ruminal (Hespell, 1979), la tasa de pasaje de la digesta al intestino delgado también puede influir (Goetsch y Owens, 1986). La síntesis microbiana óptima ocurre cuando existe una apropiada sincronización entre la proteína digestible en rumen y la MO fermentable en rumen. Dietas

deficientes en proteína o N digestible en rumen pueden limitar el crecimiento microbial (Satter y Slyter,1974) y el exceso de proteína digestible en rumen es también indeseable por la alta excreción de N en el ambiente (Poos et al.,1979).

Rohr et al. (1986) asumen que aproximadamente 35 g del nitrógeno microbial que fluye a intestino delgado es proporcionado por cada kg de materia orgánica aparentemente digerida. Esto muestra que el consumo de energía es un indicativo de la cantidad de N que fluye a intestino delgado.

Importancia de la proteína de escape.

Durante un periodo de tiempo se ha considerado que la naturaleza de los compuestos nitrogenados ingeridos era de poca importancia para la nutrición de los rumiantes, por que estos elementos eran en su totalidad desdoblados en rumen y por ultimo la disponibilidad para el animal era adecuada como proteína microbiana de composición consistente (Annison y Lewis, 1986).

Se han investigado diferentes métodos de procesamiento para reducir la fermentación en rumen y extender la degradación de la proteína de la ingesta, estos métodos por lo general han sido utilizando tratamientos térmicos y utilización de agentes químicos, o la combinación de ambos (Pena et al., 1986; Whitehouse, 1994). Solo que el reto ha consistido en identificar las condiciones adecuadas durante el

procesamiento que puedan llegar a aumentar la digestibilidad de la proteína indegradable en rumen, en medida que se justifique el costo del dicho proceso.

Los requerimientos de proteína del animal durante el crecimiento, alta producción y reproducción, cambian y no pueden ser cubiertos solamente por la proteína microbiana, por ello en raciones altas en concentrado requieren un suplemento de proteína degradable en rumen para maximizar la utilización de la energía en el rumen (Satter et al., 1975; Huber y Kung, 1981; Wessels y Titgemeyer, 1997).

Karges et al., (1992) realizaron estudios en novillos cruzados, comparando tres niveles de proteína degradable en rumen (0.15, 0.27 y 0.37 kg/d) contra tres niveles de proteína de escape (0.07, 0.14 y 0.21 kg/d) y un grupo testigo con suplemento de energía basado en almidón de maíz y melaza. Observaron un incremento en la ganancia de peso ($P<.01$) en los tratamientos adicionados con proteína de escape comparados al grupo testigo, lo que podría indicar que la síntesis de proteína microbiana puede ser insuficiente para satisfacer los requerimientos de proteína metabolizable. Durante los procesos a los que se somete algunos ingredientes de la dieta como las harinas se busca incrementar las fracciones B al igual que la C, lo que quiere decir, es que se incrementa la fracción de proteína verdadera y proteína indegradable en rumen (Goelema et al., 1999; Prestlokken, 1999; Wang et al., 1999). Por otro lado, el procesamiento térmico puede provocar

grandes pérdidas de aminoácidos en primer lugar y el mas importante por ser limitante es lisina, cisteína y arginina (Dale, 1996).

Datos obtenidos en vacas lactando, becerras y ovejas sugieren que el 50% o más proteína cruda de la harina de gluten de maíz y harina de sangre escapan a la degradación en el rumen y pasan intactas al intestino delgado (Clark et al., 1987). Con el propósito de brindar una mayor proteína de escape se han utilizado suplementos proteicos como la harina de sangre que tiene un aporte de proteína de escape de 88% aproximadamente (%PB) y la harina de gluten de maíz de 83% (Stern et al.,1994), sin embargo la respuesta en el uso de estos suplementos puede verse afectada por el proceso que se utiliza en su obtención mediante tratamientos térmicos los cuales pueden disminuir su degradabilidad, debido a alteraciones químicas que impiden la acción de las enzimas proteolíticas (NRC, 2001).

Proteína metabolizable.

Los requerimientos de proteína son suministrados tanto para mantenimiento y producción. Los requerimientos para mantenimiento consisten en N urinario endógeno, N de descamación (piel, secreciones de la piel y el cabello), y N metabólico fecal, en cuanto los requerimientos estimados para la producción incluyen las proteínas necesarias para el producto de la concepción, el crecimiento, y la lactancia.

Dentro de los requerimientos de proteína metabolizable (MP) para mantenimiento se asume que la eficiencia de la proteína metabolizable a proteína neta es de 0.67 (NRC, 1989). Además, las necesidades de proteína metabolizable para gestación (MPpreg) debe considerarse cuando el animal se encuentra dentro de esa condición, estos requerimientos están dados por modelos matemáticos que toman en cuenta el aumento en la deposición en algunos tejidos tales como, feto, placenta, fluidos fetales y uterinos (NRC, 2001), y se asume que la eficiencia de MPpreg es de 0.30. Esto fue observado en un estudio de Bell et al. (1995) quienes utilizaron animales con 190 días de preñez esto por que los requerimientos antes de ese periodo de días es menor, así que el estudio fue durante el día 195-279 de preñez, derivando de este estudio modelos de predicción para MPpreg, al igual para animales en lactancia la eficiencia de la MP de lactancia se asume que es de 0.67, los requerimientos de proteína de lactancia esta basada en la cantidad de proteína que es secretada en la leche.

El requerimiento de proteína neta (NP,g/d) es calculado usando la energía retenida (RE), promedio de ganancia diaria de peso (WG) y el equivalente del peso mermado corporal (EQSBW) (NRC, 2001).

Utilización de Aminoácidos.

La absorción de aminoácidos en rumen son una fuente de utilización para la síntesis microbial (MPC), proteína indegradable ruminal

(RUP) y proteína cruda endógena y esto es esencial para la síntesis destinada a proteína de tejidos y de lactancia, entre otros como precursores y otros procesos nutricionales, como por ejemplo la leucina al ser un precursor en la gluconeogenesis y convertirse a ácidos grasos volátiles o servir como fuente de energía cuando se oxidan a CO₂ (NRC, 2001).

En la pared de la célula de la bacteria existen pequeñas cantidades de D-AA y estas requieren de un isómero-L para su conversión y esta eficiencia depende de cada especie animal (Baker, 1994).

Titgemeyer y Merchen (1990), notaron una tendencia en la disminución de N retenido cuando fue adicionado abomasalmente DL-metionina a los novillos en comparación con L-metionina. Por otro lado Campbell et al. (1996) observaron que al utilizar L-metionina y D-metionina en ganado de engorda mostraron una eficiencia similar en la retención de N durante el crecimiento.

Dentro de los veinte aminoácidos principales existen aminoácidos esenciales, entre los que se incluyen, en primer lugar metionina, lisina, arginina, histidina, isoleucina, leucina, fenilalanina, treonina, triptófano, y valina, es tipos de aminoácidos son llamados así por que el organismo por si solo no los puede sintetizar de una manera suficiente para cubrir los requerimientos durante el crecimiento o etapas productivas donde es alta la demanda, por otro lado los AA no esenciales son aquellos que son sintetizados por el organismo y además de ser componentes propios de los alimentos (Heger y Frydrych, 1989).

Dentro de los aminoácidos esenciales principales como metionina por ejemplo puede ser sintetizado a partir de cisteína-cisteína ya que este es un precursor de metionina y aminoácidos de cadena sulfurada. Tanto en ganado lechero como en ganado de engorda en crecimiento la metionina se convirtió en el aminoácido esencial mas importante en la MP, al infundir metionina y lisina al ganado vía duodeno, se ha observado un efecto positivo en la retención de N, ADG y la proteína en la leche, haciendo pensar que son determinantes de la cantidad de la eficiencia de la proteína microbial (NRC, 2001).

En estudios realizados se ha observado que la lisina fue determinado uno de los principales aminoácidos limitantes en ganado recién destetado, en crecimiento, y lactación, cuando la dieta fue a base de maíz o subproductos de este mismo al ser el mayor aportador de RUP (Burris et al., 1976; Hill et al., 1980; King et al., 1991; Polan et al., 1991; Schwab et al., 1992; Abe et al., 1997). Por el contrario metionina fue determinado como limitante cuando la dieta fue baja en productos provenientes de maíz, y creciente en forraje y proteína de origen animal o en combinación con harinas de soya (Schwab et al., 1982; Donahue et al., 1985; Klemesrud y Klopfenstein, 1994; Hopkins et al., 1999; Robert et al., 1999).

Veira et al. (1991) utilizaron una dieta con base en cebada y ensilado de alfalfa en animales de 278 kg con acceso ad libitum, adicionando a la dieta 0.5 kg/d de aminoácidos protegidos (0.11% de lisina y 0.04% de metionina, como porcentaje de la dieta) observaron un

aumento de 16.3% en la ganancia diaria de peso ($P<.05$) y un 15.7% en la conversión alimenticia, una de las posibles razones por la cual se observaron amplias diferencias por Veira (1991), pueden deberse a que el ensilado de alfalfa es deficiente en metionina y lisina.

Requerimientos de Aminoácidos en becerros en crecimiento

El termino requerimientos se refiere a la cantidad de cada aminoácido que pueda ser suplementado de una fuente externa y que pueda ofrecer la máxima respuesta, sin embargo, la suplementación esta influenciada por los niveles de energía de la dieta, estado fisiológico del animal, producción, potencial genético y estrés medioambiental (Mathers, 1979).

Titgemeyer et al.(1988), mencionan que la proteína microbial es deficitaria en aminoácidos de cadena azufrada, por ejemplo lisina y metionina, por ello, suplementar con aminoácidos sobre pasantes es una práctica adecuada ya que ayudara a cubrir los requerimientos del animal. (Gibb et al., 1992).

Establecer los requerimientos proteicos ha sido complicado en rumiantes, esto debido a las particularidades del metabolismo del nitrógeno, esto debido a que la proteína que fluye a intestino delgado difiere de la proporcionada en la dieta (Owens y Bergen, 1983). Independientemente de eso en animales jóvenes o en etapa de

crecimiento los requerimientos de proteína son superiores a los proporcionados por los microorganismos del rumen (Chalupa, 1975).

Hussein y Berger (1995), suplementaron aminoácidos protegidos ruminalmente (RPLM) a 168 novillos Holstein (182.7 ± 27.5 kg), los cuales fueron asignados a cuatro niveles de RPLM (0, 5, 10 y 15 gr/d) durante 266 días, dividiendo las fases de crecimiento y finalización, observando que al utilizar un suplemento de aminoácidos protegidos contra la degradación ruminal resultó en un aumento en la ganancia diaria de peso (4.92%) durante los primeros 84 d de crecimiento cuando se suplementaron 5 gr/d de RPLM, en cuanto el consumo de alimento y la eficiencia alimenticia se muestran similares ($P > .10$), en estudio realizados se ha reportado que la retención de nitrógeno aumenta cuando se suplementaron metionina y lisina (Schelling et al., 1973; Chalupa y Chandler, 1975; Burris et al., 1976). Por otro lado en un estudio realizado por Veira et al. (1991) reportan que al utilizar una dieta en base de cebada y ensilado de alfalfa el suplementar RPLM (0.5kg/d) de los cuales el 0.11% fue lisina y el .04% metionina como porcentaje de la dieta, los novillos aumentaron la ganancia diaria de peso 16.3% y 15.7% ($P < 0.05$) la eficiencia alimenticia en comparación al grupo testigo.

Probablemente el punto crítico en el uso de animales en crecimiento es el de ser capaces de predecir adecuadamente cuando los requerimientos de proteína metabolizable han sido reunidos, así como el porcentaje de proteína que no muestra tener efecto sobre los parámetros productivos de los animales (Klopfenstein, 1992).

En un estudio realizado con novillos Holstein (157kg) durante 98 días utilizando una dieta en base de maíz con un 13.5% de PC Van Amburg et al. (1993) observaron un importante aumento en la ganancia diaria de peso ($P < .05$) de 19% (1.45 vs 1.73kg/d) cuando suplementaron con 3 gr de aminoácidos protegidos de la degradación ruminal, mientras que al utilizar 6 y 9 gr d^{-1} solo el 13%.

En un estudio realizado por Zinn et al.(2000), en becerros Holstein (122kg), observaron que cuando se utilizo urea como fuente única de suplemento de nitrógeno en una dieta a base de maíz hojueleado, los aminoácidos metabolizables (MAA) que fluyen a intestino delgado resultaron ser limitantes, reflejándose en la ganancia diaria de peso y eficiencia energética, por otro lado, Machado et al. (2002) observaron un aumento en la ganancia de peso (6.2%) y (8.3%) en la eficiencia de ganancia fue debido a proveer los requerimientos de MAA que fluyen a intestino durante los primeros 168 d de engorda en becerros Holstein (114kg) alimentados con una dieta a base de sorgo hojueleado. Zinn et al. (2000) y Machado et al. (2002), coinciden en que los principales aminoácidos limitantes son metionina y lisina, por ello la necesidad de cubrir los requerimientos de estos dos aminoácidos, por ello NRC (2000) establece que 12.96 g d^{-1} de metionina y 41.48 g d^{-1} de lisina son indispensables de cubrir durante la etapa de crecimiento que abarca hasta 112 d de engorda.

Aminoácidos protegidos de la degradación ruminal.

En la actualidad se ha discutido sobre la importancia que tiene lisina y metionina como aminoácidos limitantes en las dietas basadas en maíz en ganado bovino de engorda, por ello, uno de los principales retos son los altos requerimientos de aminoácidos de sobre paso al formular la dieta.

Existen varias técnicas que se han utilizado para llenar estos requerimientos, una de las formas de utilizar estos aminoácidos no degradados en rumen son cristalizados, pero se ha observado que no es eficiente este método ya que se presentan una gran desanimación en rumen (Onodera, 1993).

En la búsqueda de lograr una mayor eficiencia en la suplementación de metionina y lisina de sobre paso a intestino delgado, NRC (2000), clasifican tres métodos o tecnologías las cuales podrían ser utilizadas en la protección de aminoácidos en rumen, (NRC, 2000).

1. Recubrimiento de la superficie con un ácido graso y una mezcla de polímeros pH/sensibles.
2. Recubrimiento de la superficie o envueltos en grasas o ácidos grasos volátiles.
3. Fuentes líquidas de análogo de hidroximetionina (ácido DL-hidroxy-4 metiltiobutanoico;HMB).

El método 1 consiste en un mecanismo que es regulado por diferencias en el pH existente en rumen y abomaso, en este proceso no intervienen procesos enzimáticos, los productos resultantes de este método muestran un alto coeficiente de resistencia de degradación ruminal (Mbanzamihi et al., 1997; Robert y Williams, 1997) y además poseen un alto índice de liberación en intestino delgado (Robert y Williams, 1997).

Al medir concentración de metionina y lisina en plasma resultan altos los niveles en comparación al que no se suministraron estos productos. Esto indica ser que este proceso es bastante eficiente en cuanto los aminoácidos que pueden fluir a intestino delgado y ahí ser metabolizados.

Método 2. Este método presenta grandes variaciones al ser evaluado (Loerch y Oke, 1989; Schwab, 1995), además de presentar algunas limitantes en el procesamiento de la metionina. En si, esta tecnología se basa en la combinación de procesos y materiales la cual proporciona una capa o recubrimiento que ofrece una protección contra la degradación en rumen.

Otra alternativa es la utilización de un análogo de metionina (HMB) (proceso 3), este consiste en ofrecer un recubrimiento o encapsulado al producto. Esta fuente líquida de análogo de metionina se ha utilizado en cerdos y en aves como fuente alterna de metionina, ya que este análogo

se convierte mediante procesos enzimáticos en α -ceto análogo de metionina para después sufrir una transaminación y transformarse a L-metionina (Baker, 1994).

A pesar de que no existe suficiente evidencia en rumiantes, el HMB muestra ser mayormente resistente a la degradación ruminal en comparación a la metionina libre (Belasco 1972; Patterson y Kung 1988). Koenig et al. (1999) es el único que ha realizado estudios utilizando HMB en ganado bovino, utilizando vacas en lactación incorporó a la dieta 30gr de HMB, la cual al ser analizados los datos arrojaron que un 50% del producto escapó de la degradación ruminal.

En la actualidad los subproductos son utilizados como fuente de aminoácidos sobrepasantes, tales subproductos muchas veces son obtenidos mediante procesos en los cuales afectan su disponibilidad o aun peor sufren cambios físico-químicos que provoca una deficiencia en su coeficiente de absorción en intestino delgado, entre estos procesos tenemos los subproductos obtenidos mediante procesos térmicos, químicos etc.

La importancia de suplementar metionina y lisina protegidos de la degradación ruminal se mira reflejada en un aumento del N retenido (Schenck et al., 1973; Chalupa y Chandler, 1975).

En un estudio realizado por Veira (1991) con animales de 278 kg utilizando 0.11% de lisina y 0.04% de metionina protegida con dietas en base de cebada y ensilado de pasto, observó una ganancia diaria de

peso un 16.3%, así como una mejora en la conversión alimenticia de 15.7%, por el contrario en otro estudio realizado por Hussein y Berge (1995) no observaron diferencias al suplementar distintos niveles de aminoácidos de sobrepaso sobre la ganancia de peso ni la conversión alimenticia.

MATERIALES Y METODOS.

Los estudios experimentales realizados se llevaron a cabo bajo los procedimientos y técnicas aprobados por la Universidad de California-Davis y la Universidad de Baja California.

Dentro del estudio se utilizaron dos productos con aminoácidos protegidos ruminalmente, uno de ellos Smartamine®, el cual es un producto de metionina protegida el cual es muy estable a nivel ruminal y se libera al pasar al abomaso del animal, Smartamine® esta constituido aproximadamente de un 75% de metionina-DL ($\text{CH}_3\text{-S-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$) la cual es técnicamente es metionina pura, este aminoácido está protegido por una micro cápsula la cual está constituida a su vez por un copolimero (2-vinil-piridina-co-estireno), la cual proporciona una protección en una solución con pH de 6 y una liberación en una solución con pH de 4.

El otro producto utilizado fue Aminoshure®, este producto el cual esta constituido por lisina protegida contra rumen, el encapsulado consiste en 50-52% de L-lisina protegida contra el rumen y el encapsulado está recubierto en su mayoría por aceite vegetal.

Experimento 1. Comportamiento productivo.

Para evaluar el requerimiento de Metionina metabolizable sobre el comportamiento productivo durante los primeros 112 días de engorda, se

utilizaron 150 becerros (120.12 ± 4.85 kg) de la raza Holstein originarios de Tulare Ca. (Ted Greidonas, Calf-Tec).

El estudio experimental inicio el 7 de Diciembre de 2010, a la llegada a la estación experimental de Universidad de California (DREC), el calendario de manejo se muestra en el cuadro 1.

Los becerros fueron vacunados para IBR, BVD (tipo 1 y 2), PI_3 , BRSV (2ml, SC, Cattle Master Gold FP 5 L5), clostridiosis (5ml, Ultrabac 8, Pfizer, New York, NY), tratados contra parásitos internos y externos (3ml, Dectomax, Pfizer, New York, NY), vitaminados con E-AD (5ml, Stuart products, Bedford, TX) y se administraron 3ml de Draxxin (Pfizer, New York, NY). Los animales fueron implantados al final de la prueba (112d de engorda) Revalor-S (Intervet Inc., Millsboro, DE).

La composición de las dietas experimentales se muestra en la Cuadro 1. Estas dietas fueron preparadas en intervalos de 7 días y almacenadas en cajas de madera localizadas por el frente de cada corral, los servicios de alimento ofrecidos a los animales fueron dos veces por día en horarios de 0600 y 1400 h, ofreciendo el 40% en la mañana y 60% en la tarde. El consumo de alimento se ofreció *ad libitum*.

Se registro el peso individual para los becerros y posteriormente fueron asignados a 30 corrales (5 becerros/por corral). Los corrales fueron establecidos a los siguientes tratamientos:

- 1) Testigo (dieta basal) usando urea como única fuente de N suplementado (0% Smartamine® y 0% de AminoShure®).

Los tratamientos 2,3,4 y 5 constaron de la inclusión de metionina con distintos niveles y con un nivel fijo de AminoShure® de 1.01%.

2) 0.032% Smartamine®.

3) 0.064% Smartamine®.

4) 0.096% Smartamine®.

5) 0.128% Smartamine®.

Las dimensiones de los corrales utilizados son: 43 m² de área con 22 m² de sombra y 2.4 m lineales de comedero.

Se realizaron cuatro pesajes (28d, 56d, 84d y 112d) durante el experimento 1, se tomaron muestras de sangre vía jugular, 1 animal/por corral, 1 por tratamiento, el día 56 y 112 de la prueba, inmediatamente las muestras fueron centrifugadas a 5000 rpm por 5 min para la extracción del plasma (4ml) y fueron congeladas para ser analizadas posteriormente.

Para evaluar los parámetros de comportamiento productivo para los becerros se asume que el primer factor determinante de la energía de ganancia es la ganancia de peso y se aplicó la siguiente ecuación: **EG**= (0.0557 BW^{.75}) ADG^{1.097}, donde EG es la energía diaria depositada expresada en Mcal/d y BW es la media del peso corporal (NRC, 1984).

La energía requerida para mantenimiento (EM; Mcal/d) fue calculada por la siguiente ecuación: **EM**= .084 BW^{.75} (Garrett, 1971). De las estimaciones derivadas para energía requerida para mantenimiento y ganancia, la energía neta para mantenimiento (**ENm**) y la energía neta

para ganancia (**ENg**) de las dietas se obtuvo por medio de la formula cuadrática: $x = (-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac})/2c$, donde $a = -.41EM$, $b = .877EM + .41DMI + EG$, y $c = -.877DMI$; $EN_g = .877NE_m - .41$ (Zinn y Shen, 1998).

Las variables sobre comportamiento productivo serán analizadas según un diseño en bloques completos al azar donde la razón del bloqueo fue en base al peso inicial.

Experimento 2.- Características Digestivas.

Para evaluar las características digestivas al suplementar metionina y lisina, se utilizaron cinco novillos Holstein (188 ± 7.15 kg) provistos con cánulas en rumen y duodeno proximal, los cuales fueron asignados a un cuadro latino 5X5. Los tratamientos fueron los mismos que en el experimento 1, con la diferencia que se incorporo oxido crómico como marcador. El consumo de materia seca fue restringido al 2.2% del peso vivo. Las dietas fueron ofrecidas a las 08:00 y 20:00 hrs. Los periodos de experimentación consistieron de 10 días de adaptación y 4 de muestreo.

Los tiempos de muestreos fueron los siguientes: día 1 (10:30-16:30h), día 2 (9:00-15:00h), día 3 (7:30-13:30h) y día 4 (6:00-12:00). Las muestras individuales tomadas consistieron en 700ml de contenido duodenal y 200 gr de heces (base húmeda). Durante el día 4 de muestreo se tomo una muestra de contenido ruminal (100ml) y una muestra de sangre. La muestra de sangre (10ml) fue tomada vía jugular a cada novillo. Las muestras de contenido ruminal tomadas seles tomo

lectura de pH y fueron preparadas con 2ml de m-acido fosfórico y 8ml de liquido rumianal, las muestras fueron centrifugadas ($17,000 \times g$ por 10 min) y el fluido resultante fue almacenado a -20°C para análisis de concentración de ácidos grasos volátiles (VFA) (cromatógrafo de gases; Zinn, 1988), al finalizar la compilación de muestras de fluido ruminal se uso para obtener la muestra de bacteria ruminal (Bergen et al., 1968).

Las muestras de fluido duodenal y muestras de heces se utilizaron para la realización de los siguientes análisis: Materia seca (secado a 105°C), cenizas, Kjendahl N, N amoniacal (AOAC, 1984); NDF (Goering y Van Soest, 1970), purinas (Zinn y Owens, 1986); oxido crómico (Hill y Anderson, 1958), almidón (Zinn, 1990). Las variables sobre características metabólicas serán analizadas bajos un análisis de cuadro latino de 5X5 (Hicks, 1973).

Composición e ingredientes de las dietas experimentales consumidas por los novillos.

Cuadro 1. Composicion de las dietas experimentales consumidas por los novillos (Exp. 1 y 2)

Ingredientes	Nivel de metionina, %				
	0	0.032	0.064	0.096	0.128
Composición de la dieta, % (BS)					
Maíz rollado	74.31	74.31	74.31	74.31	74.31
Sudan	7.68	7.68	7.68	7.68	7.68
Alfalfa	3.84	3.84	3.84	3.84	3.84
Cebo	3.09	3.09	3.09	3.09	3.09

Melaza	7.05	7.05	7.05	7.05	7.05
Oxido de magnesio	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Fosfato dicalcico	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49
Piedra caliza	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22
Urea	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88
Minerales traza sal ²	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Smartamine®, %	0	0.032	0.064	0.096	0.128
Aminosshure®, %	0	1.01	1.01	1.01	1.01
Composición nutrimental ⁴ , (BS)					
NE, Mcal/kg					
Mantenimiento	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21
Ganancia	1.55	1.55	1.55	1.55	1.55
Proteína cruda, %	11.52	11.52	11.52	11.52	11.52
	32				
Extracto etéreo, %	6.51	6.51	6.51	6.51	6.51
NDF, %	13.25	13.25	13.25	13.25	13.25
Calcio, %	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73
Fosforo, %	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36
Potasio, %	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79
Magnesio, %	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28
Azufre, %	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16

¹ oxido crómico (0.35%) se añadió como marcador en el alimento en el Exp 2.

² Trace minerales traza, sal conteniendo: CoSO₄, .068%; CuSO₄, 1.04%; FeSO₄, 3.57%; ZnO, 1.24%; MnSO₄, 1.07%, KI 0.052%; and NaCl, 92.96%.

³ Basados sobre las tablas de energía neta (NE) para cada ingrediente (NRC, 1984) con la excepción de la grasa suplementada, la cual fue asignada a NE_m y NE_g con valores de 6.03 y 4.79, respectivamente.

⁴ Smartamine, %: tratamiento 1; 0, Tratamiento 2; 0.032, Tratamiento 3; 0.064, Tratamiento 4; 0.096, Tratamiento 5; 0.128.

⁵ Aminosshure, %: Tratamiento 1; 0, Tratamiento 2,3,4,5; 1.01.

RESULTADOS Y DISCUSION.

El efecto de los tratamientos sobre el comportamiento productivo y energía neta de la dieta (EN) se presenta en el Cuadro 2. Durante todo el periodo de duración de la prueba (de 1 al 112 d), los tratamientos no muestran tener un efecto lineal, cuadrático o cubico sobre ganancia diaria de peso (**GDP**,kg/d) y consumo de materia seca (CMS, g/d)($P > 0.05$). En un estudio realizado con novillos cruzados (267 kg) durante un periodo total de 161 d la suplementación de metionina (Met) y lisina (Lys) protegida a 60 novillos cruzados (267kg) los tratamientos no mostraron tener efecto sobre las variables de GDP, CMS y eficiencia alimenticia en comparación al tratamiento control (0%Met), sin embargo los niveles de concentración de metionina en plasma fueron altos ($P < 0.05$) para los novillos suplementados (Klemesrud et al., 2000), Hill et al. (1980) no reportaron un incremento en el N retenido en novillos cuando la dieta consto de 65% de maíz y de un suplemento postruminal de metionina, en contraste Hussein y Berger (1995) al suplementar metionina y lisina protegida de la degradación ruminal en novillos Holstein (182.7kg) durante 266 días de prueba totales, reportaron una respuesta similar al suplementar 5 y 10g/d de metionina y lisina, resultando en un efecto cuadrático ($P < 0.10$) sobre la ganancia de peso y peso final, 3% y 4% mayor en cuanto al grupo control (0% met y lys).

Por otro lado, durante el periodo de estudio comprendido entre los días 1 y 56 los tratamientos con 0.064% y 0.096% de inclusión de metionina en la dieta muestran un efecto lineal y cuadrático ($P \leq .05$) sobre la eficiencia alimenticia, la adición de lisina protegida ruminalmente en dietas a base de maíz podría mejorar la ADG de novillos especialmente durante los primeros periodos de crecimiento, cubriendo correctamente los requerimientos de aminoácidos sin una sobrealimentación, ya que la eficiencia de utilización de la proteína puede ser maximizada durante los primeros periodos de crecimiento del animal, Klemesrud et al. (2000).

Klemesrud et al. (2000) reportaron en su estudio que durante el primer periodo comprendido entre 1 y 56d muestra un efecto cuadrático sobre la ADG ($P \leq .01$) (0.28kg/d) conforme aumento el nivel de inclusión de lisina de 3 a 4 g/d. Hussein y Berger (1995) al utilizar 168 novillos Holstein (182.7kg) durante un periodo total de 266d de prueba, utilizando una fuente de proteína cruda de harina de soya, harina de soya-urea y cuatro niveles de aminoácidos protegidos de la degradación ruminal (0, 5, 10 y 15g/novillo/d) reportaron que los niveles de proteína cruda en la dieta o los niveles de aminoácidos protegidos del rumen (met y Lys) responden de forma diferente según sea el periodo de crecimiento en el que se encuentran los novillos.

Zinn et al. (2007) Utilizaron harina de pescado como fuente de aminoácidos metabolizables en un estudio que consto de 108 novillos

Holstein (114kg) asignados a tres estrategias de alimentación, reportando en la estrategia de alimentación que constaba de distintos periodos de alimentación un incremento de 18% en la ganancia diaria de peso ($P \leq .01$), 4% en el consumo de materia seca ($P \leq .05$) en comparación al tratamiento con una sola estrategia de alimentación.

La ENg y ENm muestran un efecto lineal ($P \leq .04$) y cuadrático ($P \leq .05$) entre lo esperado y lo observado durante los primeros 56d del estudio cuando se suplementó .096% de metionina en la dieta. Machado et al. (2002) reportaron un aumento de 6.2% en la ADG, en la eficiencia alimenticia de 8.3% y EN de la dieta (5.2%) cuando previeron los requerimientos necesarios de aminoácidos durante los primeros 168 días de engorda en ganado Holstein (114kg).

En dietas con un 80% de cebada Fenderson y Bergen (1975), demostraron que metionina es el principal aminoácido limitante, en contraste cuando se ha suplementado lisina en dietas en base a maíz mostraron que lisina es el principal aminoácido limitante (Titgemeyer et al., 1988), esto es ocasionado por que una gran fracción de proteína que escapa del rumen proveniente del maíz (60%; NRC, 1985) es una rica fuente de aminoácidos sulfurados (metionina) y una pobre fuente de lisina (NRC, 1982). En un estudio realizado por Veira et al., (1991) con novillos de 278kg durante 154d donde ofrecieron ensilado de forraje a acceso a libitum, cebada (0.5kg/d), no suplementados y suplementados con aminoácidos protegidos de la degradación ruminal (0.11% lys y

0.04%met), reportaron que los novillos que fueron suplementados con los aminoácidos tuvieron un incremento en la ADG y eficiencia alimenticia de ($P \leq .05$) de 16.3% y 15.7 ($P \leq .05$) respectivamente en comparación al tratamiento control, esto cuando la base de la alimentación fue grass silage.

Cuadro 2. Influencia del nivel de suplementación de metionina y lisina en el crecimiento de novillos y energía neta (NE) valor neto de la dieta (Exp. 1).

Concepto	Nivel de metionina, %					Contraste <i>P</i> -valor			
	0	0.032	0.064	0.096	0.128	SEM	Linear	Cuadrático	Cúbico
Días en prueba	112	112	112	112	112				
Replicas	6	6	6	6	6				
Peso vivo, Kg ¹									
Inicial	120	120	120	120	120	0.1	0.08	0.32	0.16
Final	259	261	260	262	258	2.1	0.99	0.34	0.67
GDP, kg									
1- 28 d	1.08	1.14	1.14	1.15	1.11	0.03	0.51	0.15	0.99
28- 56 d	1.17	1.20	1.18	1.20	1.21	0.03	0.43	0.89	0.69
1- 56 d	1.13	1.17	1.16	1.18	1.16	0.02	0.27	0.21	0.78
56- 112 d	1.34	1.33	1.33	1.34	1.30	0.03	0.39	0.63	0.49
1- 112d	1.23	1.25	1.25	1.26	1.23	0.02	0.95	0.31	0.71
CMS, g/d									
1- 28 d	4.00	4.13	4.08	3.96	4.07	0.09	0.93	0.70	0.17
28- 56 d	4.99	4.89	4.68	4.69	4.83	0.1	0.27	0.20	0.62
1- 56 d	4.50	4.51	4.38	4.33	4.45	0.09	0.35	0.40	0.27
56- 112 d	4.99	4.89	4.68	4.69	4.83	0.1	0.27	0.20	0.62
1- 112d	5.31	5.29	5.19	5.21	5.21	0.08	0.31	0.65	0.83
GDP/CMS, kg/kg									
1- 28 d	0.271	0.276	0.280	0.292	0.274	0.01	0.39	0.22	0.24

28- 56 d	0.234	0.246	0.256	0.259	0.250	0.01	0.10	0.14	0.68
1- 56 d	0.251	0.259	0.266	0.273	0.261	0.01	0.03	0.03	0.29
56- 112 d	0.270	0.272	0.287	0.289	0.269	0.01	0.68	0.15	0.31
1- 112d	0.233	0.236	0.241	0.242	0.236	0.01	0.29	0.13	0.55

Energía neta de la dieta NE, Mcal/kg

Mantenimiento

1- 28 d	1.79	1.79	1.81	1.87	1.80	0.03	0.38	0.41	0.15
28- 56 d	1.76	1.83	1.90	1.91	1.85	0.05	0.11	0.09	0.58
1- 56 d	1.77	1.81	1.85	1.89	1.82	0.03	0.04	0.05	0.23
56- 112 d	1.90	1.91	1.93	1.92	1.92	0.03	0.71	0.55	0.98
1- 112d	1.86	1.88	1.91	1.92	1.89	0.02	0.24	0.16	0.55

Ganancia

1- 28 d	1.16	1.16	1.17	1.23	1.16	0.03	0.38	0.41	0.15
28- 56 d	1.13	1.19	1.25	1.27	1.21	0.04	0.11	0.09	0.58
1- 56 d	1.15	1.18	1.21	1.25	1.19	0.02	0.04	0.05	0.23
56- 112 d	1.26	1.27	1.29	1.27	1.27	0.03	0.71	0.55	0.98
1- 112d	1.22	1.24	1.26	1.27	1.24	0.02	0.24	0.16	0.55

Índice NE de la dieta, Observado/esperado

Mantenimiento

1- 28 d	0.82	0.82	0.83	0.86	0.83	0.01	0.38	0.41	0.15
28- 56 d	0.81	0.84	0.87	0.88	0.85	0.02	0.11	0.09	0.58
1- 56 d	0.82	0.83	0.85	0.87	0.84	0.01	0.04	0.05	0.23
56- 112 d	0.88	0.88	0.89	0.88	0.88	0.01	0.71	0.55	0.98
1- 112d	0.86	0.87	0.88	0.88	0.87	0.01	0.24	0.16	0.55

Ganancia

1- 28 d	0.77	0.77	0.79	0.82	0.78	0.02	0.38	0.41	0.15
28- 56 d	0.76	0.80	0.84	0.85	0.81	0.03	0.11	0.09	0.58

1- 56 d	0.77	0.79	0.81	0.83	0.80	0.01	0.04	0.05	0.23
6- 112 d	0.84	0.85	0.86	0.85	0.85	0.02	0.71	0.55	0.98
1- 112d	0.82	0.83	0.85	0.85	0.83	0.01	0.24	0.16	0.55

El análisis de concentración de aminoácidos en plasma se muestra en el cuadro 3. La concentración en plasma de metionina muestra un efecto lineal ($P \leq 0.001$), ya que conforme aumento el suplemento de metionina se puede observar un incremento de este en el plasma, muestra el nivel más alto en la concentración cuando se suplemento a 0.128% en la dieta (2.8 mmol/dL). Wessel et al. (1997) reportaron un aumento en la concentración de lisina ($P=0.02$) (19%) y aun que podría haber sido una aminoácido colimitante en la dieta basal, la acumulación de lisina en el plasma sugiere que el suministro ha superado el requerimiento después de la infusión de aminoácidos post ruminalmente. Generalmente un incremento en la concentración de algún aminoácido esencial sucede cuando existe una suplementación postruminal de proteína y esto podría significar que la oferta del aminoácido esencial supera el requerimiento de este (Wessels et al., 1997).

La concentración plasmática de treonina muestra un efecto cuadrático ($P \leq 0.01$) ya que al aumentar la suplementación de metionina en un 0.064% en la dieta muestra un deceso en la concentración en

plasmas (6.6mmol/dL). Inversamente una disminución en la concentración plasmática de algún aminoácido una mayor utilización de este para fines de síntesis (Gibb et al.,1992), esto podría implicar una mayor incorporación de aminoácidos en los tejidos, porque esta infusión de AA esenciales podrían estimular la acreción de proteína (Wessels et al.,1997). Por otro lado la concentración de lisina, arginina, histidina, fenilalanina, leucina, isoleucina, valina no muestran otorgar algún efecto de los tratamientos sobre la concentración plasmática de estos aminoácidos al suplementar metionina y lisina en la dieta.

Wessels et al. (1997), reportaron que conforme existió una infusión de aminoácidos limitantes abomasalmente la retención de nitrógeno reflejo un aumento, esto indica que la capacidad de respuesta en novillos implantados responde cuando existe la suplementación de AA limitantes en la dieta, cuando la única fuente de nitrógeno es la urea, en ganado de carne, como en otros animales, la síntesis de proteína y degradación tiende a incrementarse en respuesta a la suplementación de con aminoácidos limitantes. Titgemeyer et al. (1988) al suplementar metionina (13.8g/d), cisteína (16.1g/d) y lisina (52.9g/d) en novillos (383kg) sugiere que en dietas que contienen 75% de maíz los aminoácidos limitantes resultan ser lisina y metionina, ya que son requeridos para un óptimo crecimiento, ya que mediante estudios sobre infusión de AA limitantes, N retenido y concentración de AA en plasma (metionina, lisina y treonina) se ha concluido que la síntesis de proteína

microbial muestra una deficiencia en estos aminoácidos en ganado en crecimiento (Richardson y Hatfield, 1978).

Cuadro 3. Perfil de aminoácidos indispensables en plasma de novillos Holstein por la influencia de la suplementación con cinco niveles de metionina y lisina.

		Nivel de metionina, %				Contraste <i>P</i> -valor			
Concepto	0	0.032	0.064	0.096	0.128	SEM	Linear	Cuadrático	Cubico
Amino acido, mmol/Dl									
Metionina	1.9	1.8	2.1	2.4	2.8	0.1	<.001	0.66	0.55
Lisina	4.4	5.0	4.8	5.1	4.6	0.6	0.76	0.47	0.98
Histidina	7.6	6.7	6.7	7.3	6.9	0.3	0.52	0.23	0.07
Fenilalanina	4.7	4.3	4.1	4.5	4.5	0.3	0.77	0.17	0.44
Treonina	8.4	6.8	6.6	7.6	7.6	0.4	0.59	0.01	0.08
Leucina	10.0	8.9	7.7	9.7	9.8	0.9	0.89	0.12	0.52
Isoleucina	6.2	6.1	5.4	6.1	6.0	0.5	0.87	0.40	0.86
Valina	14.6	12.8	11.6	13.6	13.3	0.9	0.6	0.09	0.35
Arginina	7.3	6.9	6.7	7.8	7.2	0.6	0.68	0.73	0.31

Los efectos de tratamiento sobre las características ruminales y digestión del tracto total se muestran en el cuadro 4. La digestión ruminal de la materia orgánica (MO) mostro un efecto cuadrático ($P \leq .05$) de los tratamientos suplementados con metionina y lisina en comparación al tratamiento control. Aun sin ser significativo el efecto de los tratamientos sobre la digestibilidad en el tracto total sobre la MO se puede observar un incremento de hasta un 3.4% en los tratamientos con metionina en comparación al grupo control, en cuanto la eficiencia de MN y eficiencia N no muestran diferencias ($P \leq .05$) de los grupos suplementados con metionina y lisina al ser comparados con el grupo control.

La digestibilidad posruminal de N fue mejor ($P \leq .05$), en los tratamientos con metionina y lisina en comparación al tratamiento solo con urea (control). A pesar de la suplementación de metionina y lisina a la dieta en los tratamientos 2,3,4, y 5 la cantidad de N que fluye a duodeno no muestran tener algún efecto ($P \leq .05$) sobre los grupos suplementados, ya que la diferencia que existe en cuanto el grupo control en comparación a los grupos tratados con metionina y lisina es de apenas 1.2%. Greenwood y Titgemeyer (2000) observaron que cambios en el balance de nitrógeno al suplementar 10g/d de metionina se miró reflejado por el consumo mayor de N consumido, así como también por una baja excreción de N en la orina. Campbell et al. (1997), basado en el suplemento de AA esenciales (metionina, lisina, cisteína, treonina, histidina, leucina, isoleucina, valina, arginina, fenilalanina, tirosina) en la dieta, tendrían como resultado un aumento en el N retenido. Consistentemente Oke et al. (1986), reportaron que al suplementar metionina (.03%) y lisina (.05%) protegidos de la degradación ruminal en borregos, la retención de N fue mejor en los tratamientos donde suplementaron dichos aminoácidos en comparación al grupo con 0% de metionina y lisina, sugiriendo que estos aminoácidos resultaron ser limitantes en borregos.

Cuadro 4. Influencia de suplementación con cinco niveles de metionina y lisina sobre las características ruminales y del tracto total digestivo en novillos Holstein (Exp.2).

Concepto	0	Nivel de metionina, %				SEM	Contraste <i>P</i> -valor		
		0.032	0.064	0.096	0.128		Linea r	Cuadrático	Cubico
Consumo, g/d									
MS	4160	4202	4204	4205	4206				
MO	3928	3970	3972	3973	3974				
N	67.6	67.6	67.6	67.6	67.6				
Flujo a duodeno, g/d									
MO	1949	1793	1880	1805	1897	41.0	0.50	0.50	0.56
N	80.6	79.22	81.5	83.9	81.6	1.7	0.22	0.79	0.14
N no amoniacal	77.2	75.9	78.2	80.44	77.9	1.7	0.28	0.69	0.14
N microbial	44.5	47.1	49.4	45.6	49.2	2.2	0.27	0.64	0.29
N alimenticio	22.9	19.0	18.9	24.9	18.8	2.1	0.75	0.85	0.31
Digestion Ruminal, %									
MO	61.7	66.7	65.1	66.0	64.6	0.01	0.16	0.03	0.25
N consumido	66.2	71.9	72.0	63.1	72.2	0.03	0.75	0.85	0.31
NM Eficiencia ¹	18.4	17.9	19.1	17.4	19.2	0.79	0.66	0.59	0.49
N eficiencia ²	0.99	0.98	1.01	1.04	1.01	0.02	0.28	0.69	0.14
Digestión posruminal, %									
OM	55.7	55.0	59.5	57.4	58.1	0.02	0.24	0.57	0.67
N	70.7	70.5	74.0	75.2	72.7	0.01	0.04	0.15	0.07
Excreción fecal, g/d									
MS	976	921	866	872	909	37.4	0.15	0.11	0.80
MO	861	803	760	769	795	35.4	0.17	0.12	0.98
N	23.56	23.32	21.1	20.9	22.1	0.90	0.10	0.16	0.24
Digestión tracto total, %									
MS	76.5	78.1	79.4	79.3	78.4	0.89	0.11	0.08	0.86
MO	78.1	79.8	80.9	80.6	80.0	0.01	0.12	0.10	0.96

N	65.0	65.5	68.8	69.1	67.2	0.01	0.09	0.16	0.25
DE, %	75.7	76.7	78.1	78.0	76.7	0.96	0.32	0.12	0.61
DE dieta, Mcal/kg	3.34	3.35	3.41	3.40	3.34	0.04	0.65	0.22	0.45

¹ Nitrógeno microbial, g kg⁻¹ MO fermentada en rumen.

² Nitrogeno no amoniacal en duodeno N, g g⁻¹ N consumido.

El suplemento de aminoácidos esenciales a intestino delgado en novillos Holstein por la influencia de la suplementación de metionina y lisina se muestra en el cuadro 5. Se muestra un efecto lineal y cuadrático ($P < 0.05$) cuando se compara la cantidad de metionina que fluyo a intestino delgado en los tratamientos con suplementación de este aminoácido en comparación al grupo control, mostrando un aumento de .hasta 10.8% cuando esta se ha sido suplementada, en un estudio realizado por Zinn y Shen (1998) observaron que al suplementar harina de pescado en ganado Holstein la cantidad de AA indispensables que fluyen a intestino delgado aumentaron ($P < 0.05$). Ludden et al. (1995) al suplementar una fuente de proteína (harina de soya) observaron un aumento ($P < 0.05$) en la ganancia diaria de peso y consumo de materia seca en ganado simental cruzado (301 kg) durante los primeros 70 días de engorda en comparación cuando solo se utilizó urea como fuente de N en la dieta.

Greewood y Titgemeyer (2000) observaron un aumento ($P < .05$) en la retención de N (2.5 g/d) en novillos Holstein (200 kg) cuando fueron

infundidos abomasalmente con 10 g/d de L-metionina y adicionalmente 5.8g/d de N retenido cuando se utilizaron una mezcla de aminoácidos (metionina, lisina, treonina, histidina, fenilalanina, triptófano, leucina, isoleucina, valina, y arginina).

Cuadro 5. Suplementación de amino ácidos indispensables a intestino delgado en novillos Holstein por la influencia de la suplementación de cinco niveles de metionina y lisina (Exp. 2)

Concepto	0	Nivel de metionina, %				SEM	Contraste <i>P</i> -valor		
		0.032	0.064	0.096	0.128		Linear	Cuadrático	Cúbico
Amino ácidos indispensables, g/d									
Metionina									
Consumo	5.0	5.9	7.0	8.0	8.9	0.01	0.00	0.00	0.00
Digestión posruminal	5.8	6.01	6.3	6.5	6.3	0.1	0.00	0.02	0.11
Lisina									
Consumo	7.6	22.5	22.5	22.5	22.5	0.0	0.00	0.00	0.00
Digestión posruminal	25.3	27.0	27.6	27.8	26.8	0.7	0.09	0.04	0.92
Histidina									
Consumo	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6	0.01	0.00	0.00	0.00
Digestion posruminal	9.0	8.8	8.8	9.1	8.9	0.2	0.76	0.67	0.34
Fenilalanina									
Consumo	11.8	11.8	11.8	11.8	11.8	0.00	0.00	0.00	0.00
Digestión posruminal	18.6	18.3	18.6	18.8	18.7	0.3	0.44	0.88	0.32
Treonina									
Consumo	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	0.00	0.00	0.00	0.00
Digestión posruminal	18.7	18.5	19.1	19.4	19.2	0.4	0.16	0.91	0.33
Leucina									
Consumo	27.0	27.0	27.0	27.0	27.0	0.02	0.00	0.00	0.00
Digestión posruminal	34.2	33.8	34.1	35.0	35.0	0.8	0.30	0.60	0.51
Isoleucina									
Consumo	8.7	8.7	8.7	8.7	8.7	0.01	0.00	0.00	0.00

Digestión posruminal	18.1	18.0	18.5	18.6	18.44	0.3	0.30	0.66	0.36
Valina									
Consumo	11.03	11.03	11.03	11.03	11.03	0.00	0.00	0.00	0.00
Digestión posruminal	19.8	19.5	19.8	20.8	20.2	0.4	0.15	0.91	0.14
Arginina									
Consumo	10.5	10.5	10.5	10.5	10.5	0.01	0.00	0.00	0.00
Digestión posruminal	17.0	16.8	16.8	17.7	16.8	0.4	0.68	0.74	0.21

CONCLUSIONES.

La suplementación con metionina y lisina en becerros Holstein durante los primeros 112d de engorda, mostro tener cambios positivos sobre la eficiencia alimenticia durante los primeros 56d cuando se suplemento con 0.064% y 0.096% de metionina en la dieta, de igual forma la ENg y ENm entre lo esperado y observado muestran cambios al suplementar metionina 0.096% en la dieta, por otro lado no mostro tener efecto esta suplementación con metionina y lisina sobre las demás variables de comportamiento productivo.

En cuanto las características digestivas la suplementación con metionina y lisina muestran un incremento en cuanto la digestión ruminal de materia orgánica y la digestibilidad posruminal del N cuando se suplemento metionina y lisina a becerros Holstein durante los primeros 112d de engorda, por el contrario no se muestran efectos en las demás variables de características digestivas al suplementar metionina y lisina.

La concentración de aminoácidos en plasma y la cantidad de metionina y lisina que fluyeron a intestino delgado muestran una mayor concentración conforme se suplemento metionina y lisina en la dieta con los distintos niveles.

LITERATURA CITADA.

- Abe, M., T. Iriki, and M. Funaba. 1997. Lysine deficiency in postweaned calves fed corn and corn gluten meal diets. *J. Anim. Sci.* 75: 1974-1982.
- Annison, E.F. y M.A. Lewis. 1986. Edit. Uteha. México D.F.
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. 14th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.
- Baker, D.H. 1994. Utilization of precursors for L-amino acids. J.P.F. D'Mello, edit. Cab international. Pp:37-47.
- Belasco, I.J. 1972. Stability of methionine hydroxyl analog in rumen fluid and its conversion in vitro to methionine by calf liver and kidney. *J. Dairy Sci.* 55: 353-357.
- Bell, A.W., R. Sleptis, and R.A. Ehrhardt. 1995. Growth and accretion of energy and protein in the gravid uterus during late pregnancy in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 78: 1954-1961.
- Bergen, W.G., D.B. Purser, and J.H. Cline. 1968. Effect of ration on the nutritive quality of rumen microbial protein. *J. Anim. Sci.* 27: 1497-1501.
- Burris, W.R., J.A. Boling, N.W. Bradley, and A.W. Young. 1976. Abomasal lysine infusion in steers fed a urea supplemented diet. *J. Anim. Sci.* 42: 699-705.
- Campbell, C.G., E.C. Titgemeyer, and G. St-Jean. 1996. Efficiency of D- vs L-methionine utilization by growing steers. *J. Anim. Sci.* 74: 2482-2487.
- Campbell, C.G., E.C. Titgemeyer, and G. St-Jean. 1997. Sulfur amino acid utilization by growing steers. *J. Anim. Sci.* 75: 230-238.
- Chalupa, W. 1975. Rumen bypass and protection of proteins and amino acids. *J. Dairy Sci.* 68: 1198.
- Chalupa, W., and J.E. Chandler. 1975. Methionine and lysine nutrition of growing cattle. *J. Anim. Sci.* 41: 394.
- Clark, J.H., Murphy, M.R., Crooker, B.A. 1987. Symposium: alternate feed sources for dairy cattle. Supplying the protein needs of dairy cattle from by product feeds. *J. Dairy Sci.* 75: 2304-2323.
- Dale, N. 1996. Variation in feed ingredient quality: oilseed meals. *Anim. Feed Sci. Technol.* 59: 129-135.

- DiCostanzo, .A. 2007. Implications of balancing feedlot diets for protein fraction (RDP and RUP) or amino acids. 22nd annual southwest Nutrition and Management Conference, Tempe, AZ. Pp.37- 48.
- Donahue, P.B., C.G., J.D. Quigley, III, and W.E. Hylton. 1985. Methionine deficiency in early weaned dairy calves fed pelleted rations based on corn and alfalfa or corn and soybean proteins. J. Dairy Sci. 68: 681-693.
- Fenderson, C.L., and W.G. Bergen. 1975. An assessment of essential amino acid requirements of growing steers. J. Anim. Sci. 41: 1759.
- Garrett, W. 1971. Energy efficiency of beef and dairy steers. J. Anim. Sci. 31: 452-456.
- Geenwood, R.H., and E.C. Titgemeyer. 2000. Limiting amino acids for growing Holstein steers limit-feed soybean hull-based diets. J. Anim. Sci. 78: 1997.
- Gibb, D.J., T.J. Klopfenstein, and M.H. 1992. Combinations of rendered protein meals for growing calves. J. Anim. Sci. 70: 2581-2589.
- Goelema, J.O., A. Smith, L.M. Vaessen, and A. Wemmers. 1999. Effects of pressure toasting expander treatment and pelleting on in vitro and in situ parameters of protein and starch in mixture of broken peas, hupins and faba beans and mixture of these feedstuffs. Anim. Feed Sci. Technol. 6: 35-50.
- Goering, H.K., and P.J. Van Soest. 1970. Forage Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications). Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, DC.
- Goetsch, A.L., and F.N. Owens. 1986. Effects of dietary nitrogen level and ileal antibiotic administration on digestion and passage rates in beef heifers. I. High-concentrate diets. J. Anim. Sci. 62: 830-843.
- Heger, J., and Z. Frydrych. 1989. Efficiency of utilization of amino acids. M. Friedman, edit. CRC press, inc. Boca Raton Fl. Vol. 1. Pp. 31-56.
- Hespell, B.R., and M.P. Bryant. Efficiency of rumen microbial growth: Influence of some theoretical and experimental factors on ATP. 1979. J. Anim. Sci. 49: 1640-1659.
- Hicks, C.R. 1973. Fundamental Concepts in the Design of Experiments. Holt, Rinehart and Winston, New York.
- Hill, F.W., and D.L. Anderson. 1958. Comparision of metabolizables energy and productive energy determinations with growing chicks. J. Nutr. 64: 587-603.

- Hill, G.M., J.A. Boling, and N.W. Bradley. 1980. Postruminal lysine and methionine infusion in steers fed a urea-supplemented diet adequate in sulfur. *J. Dairy Sci.* 63: 1242-1247.
- Hopkins, D.I., W.E. Kunkle, A.C. Hammond, D.B. Bates, and B.A. Reiling. 1999. Effects of bypass methionine on the performance of growing cattle fed Bermuda grass hay supplemented with molasses based supplements. *J. Anim. Sci.* 71: 202 (abstr.).
- Huber, J.T. and L. Kung. 1981. Protein and non protein nitrogen utilization in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 64: 1170.
- Hussein, H.S., and L. Berger. 1995. Feedlot performance carcass characteristics of Holstein steers as affected by source of dietary protein and level of ruminally protected lysine and methionine. *J. Anim. Sci.* 73:3503-3509.
- Karges, K.K., T.J. Klopfenstein, V.A. Wilkerson, and D.C. Claton. 1992. Effects of ruminally degradable and escape protein supplements on steer grazing summer native range. *J. Anim. Sci.* 70: 1957.
- King, K.J., W.G. Bergen, C.J. Sniffen, A.L. Grant, D.B. Grieve, V.L. King, and N.K. Ames. 1991. An assessment of absorbable lysine requirements in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 74: 2530-2539.
- Klemesrud, M.J., and T.J. Klopfenstein. 1994. Addition of ruminal escape methionine and lysine to meat and bone meal. *J. Dairy Sci.* 77: 94 (Abstr.).
- Klemesrud, M.J., T.J. Klopfenstein, R.A. Stock, A.J. Lewis, and D.W. Herold. 2000. Effect of dietary concentration of metabolizable lysine on finish cattle performance. *J. Anim. Sci.* 78: 1060-1066.
- Klopfenstein, T. 1992. Protein requirements for beef cattle. IV Reunión de Nutrición Animal. Monterrey, N.L. Pp. 73.
- Koenig, K.M., L.M. Rode, C.D. Knight, and P.R. McCullogh. 1999. Ruminant escape, gastrointestinal absorption, and response of serum methionine to supplementation of liquid methionine hydroxyl analog in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 355-361.
- Koenig, K. M., K. A. Beauchemin, and L. M. Rode. 2003. Effect of grain processing and silage on microbial protein synthesis and nutrient digestibility in beef cattle fed barley-based diets. *J Anim Sci.* 81:1057-1067.
- Loerch, S.G., and B.O. Oke. 1989. Rumen protected amino acids in ruminant nutrition. In *Absorption and Utilization of Amino Acids*. Vol. III (M. Friedman, ed. Pp. 187-200. CRC Press. Boca Raton, FL.

- Ludden, P.A., J.M. Jones, M.J. Cecava, and K.S. Hendrix. 1995. Supplemental protein sources for steers fed corn-based diets: II. Growth and estimated metabolizable amino acid supply. *J. Anim. Sci.* 73: 1476-1486.
- Machado, M., J.F. Calderon, and R.A. Zinn. 2002. Phase feeding strategies to meet metabolizable protein requirements of calf-fed Holstein steers. *Proc. West. Sect. Am. Soc. Anim. Sci.* 53: 642.
- Mathers, J.C., E.L. Miller, and P.M. Lerman. 1979. Methionine supply and requirement in growing calves. *Ann. Rech. Vet.* 10: 310.
- Mbanzamihigo, L., E. Vandycke, and D.I. Demeyer. 1997. Degradation of methionine by rumen contents in vitro and efficiency of its protection. *Anim. Feed Sci. Tech.* 67: 339-347.
- NRC. 1982. United States-Canadian Tables of Feed Composition (3rd Rev.). National Academy Press, Washington, DC.
- NRC. 1984. Nutrient Requirements of Beef Cattle (6th Ed.). National Academy Press, Washington, DC.
- NRC. 1985. Ruminant nitrogen usage. National Academy Press, Washington, DC.
- NRC. 1989. Nutrient Requirements of Dairy Cattle (6th Ed.). National Academy Press, Washington, DC.
- NRC. 2000. Nutrient requirements of beef cattle 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- NRC, 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle (7^a Ed.) National Academy Press, Washington, DC.
- Nimrick, D., E.E. Hatfield, J. Kaminski, and F.N. Owens. 1970. Quantitative assessment of supplemental amino acid needs for growing lambs fed urea as the sole nitrogen source. *J. Nutr.* 100: 1295.
- Richardson, C.R., and E.E. Hatfield. 1978. The limiting amino acids in growing cattle. *J. Anim. Sci.* 46: 740.
- Robert, J.C., and P.E.V. Williams. 1997. Influence of forage type on the intestinal availability of methionine from a rumen protected form. *J. Dairy Sci.* 80: 248 (abstr.).
- Robert, J.C., B.K. Sloan, N. Jouan, and J. Math. 1999. Influence of supplementation with protected methionine on the growth of heifers. *J. Dairy Sci.* 82: 91 (Abstr.).

- Rohr, K., P. Lebzien, H. Schaft and E. Sculz. 1986. Prediction of duodenal flow of non-ammonia nitrogen and amino acids nitrogen in dairy cow. *Livest. Prod. Sci.* 14: 29.
- Satter, L.D., and L.L. Slyter. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *Brit. J. Nutr.* 32: 199.
- Satter, L.D., and R.E. Roffle. 1975. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 58: 1219.
- Schwab, C.G., S.J. Muise, W.E. Hylton, and J.J. Moore, III. 1982. Response to abomasal infusion of methionine of weaned dairy calves fed a complete pelleted starter ration based on by-product feeds. *J. Dairy Sci.* 65: 1950-1961.
- Schelling, G.T., J.E. Chandler, and G.C. Scott. 1973. Postruminal supplemental methionine infusion to sheep fed high quality diets. *J. Anim. Sci.* 37: 1034-1039.
- Schwab, C.G., C.K. Bozak, N.L. Whitehouse, and M.M.A. Mesbah. 1992a. Amino acid limitation and flow to the duodenum at four stages of lactation. I. Sequence of lysine and methionine limitation. *J. Dairy Sci.* 75: 3486-3502.
- Schwab, C.G. 1995a. protected proteins and amino acids for ruminants. Pp. 115-141. Wallace and A. Chesson, eds. *Biotechnology in Animal Feeds and Feeding*. V.C.H. Press, Weinheim, Germany.
- Sindt, M.H., R.A. Stock, T.J. Klopfenstein and D.H. Shain. 1993. Effect of protein source and grain type finishing calf performance and ruminal metabolism. *J. Anim. Sci.* 71:1047-1056.
- Sniffen, C.J., D.O'Connor, P.J. Van Soest, D.G. Fox and J.B. Russell. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* 70:3562-3755.
- Stern, M.D., S. Calsamiglia and M.I. Endres. 1994. Dynamics of ruminal nitrogen metabolism and their impact on intestinal protein supply. *Proceedings of the Cornell Nutrition Conference*. Oct. 18-20, Ithaca, NY.
- Oke, B.O., S.C. Loerch, and L.E. Deetz. 1986. Effects of rumen protected methionine and lysine on ruminant performance and nutrient metabolism. *J. Anim. Sci.* 62: 1101-1112.
- Onodera, R. 1993. Methionine and lysine metabolism in the rumen and the possible effects of their metabolites on the nutrition and physiology of ruminants. *Amino acids*. 5: 217-232.
- Owens, F.N , and W.G. Bergen. 1983. Nitrogen metabolism of ruminant animals: historical perspective, current understanding and future implications. *J.*

Anim. Sci. 57: 498.

Patterson, J.A., and L. Kung, Jr. 1988. Metabolism of DL-methionine and methionine analogs by rumen microorganisms. J. Dairy Sci. 71: 3292-3301.

Pena, F., H. Tagari, and L.D. Satter. 1986. The effect of heat treatment of whole cottonseed on site and extent of protein digestion in dairy cows. J. Anim. Sci. 62: 1423-1433.

Polan, C.E., K.A. Cummins, C.J. Sniffen, T.V. Muscato, J.L. Vicini, B.A. Crooker, J.H. Clark, D.G. Johnson, D.E. Otterby, B. Guillaume, L.D. Muller, G.A. Varga, R.A. Murray, and S.B. Peirce-sandner. 1991. Responses of dairy cows to supplemental rumen-protected forms of methionine and lysine. J. Dairy Sci. 74: 2997-3013.

Poos M.I., L.S. Bull, and R.W. Hemken. 1979. Supplementation of diets with positive and negative urea fermentation potential using urea or soybean meal. J. Anim. Sci. 49: 1417-1426.

Prestlokken, E. 1999. In situ ruminal degradation and intestinal digestibility of dry matter and protein in expanded feedstuffs. Anim. Feed Sci. Technol. 71: 1-23.

Titgemeyer, E., N.R. Merchen, L.L. Berger, and L.E. Deetz. 1988. Estimation of lysine and methionine requirements of growing steers fed corn silage-based or corn based diets. J. Dairy Sci. 71: 421.

Titgemeyer, E.C., and N.R. Merchen. 1990. Sulfur containing amino acid requirements of rapidly growing steers. J. Anim. Sci. 68: 2075-2083.

Van Amburgh, M., T. Perry, D. Fox, and G. Ducharme. 1993. Growth response of Holstein steers supplemented with rumen protected lysine and methionine. J. Anim. Sci. 71: 260.

Veira, D.M., J.R. Seoane, and J.G. Proulx. 1991. Utilization of grass silage by growing cattle: Effect of a supplement containing ruminally protected amino acids. J. Anim. Sci. 69: 4703-4709.

Wang, Y., T.A. McAllister, M.D. Pickard, Z. Xu, L.M. Rode, and K.J. Cheng. 1999. Effect of micronizing full fat canola seed on amino acid disappearance in the gastrointestinal tract of dairy cows. J. Dairy Sci. 82: 537-544.

Wessels, R.H., E.C. Titgemeyer, and G. St. Jean. 1997. Effect of amino acid supplementation on whole-body protein turnover in Holstein steers. J. Anim. Sci. 75: 3066-3073.

- Whitehouse, N.L., V.M. Olson, C.G. Schwab, W.R. Chesbro, K.D. Cunningham, and T.L. Lykos. 1994. Improved techniques for dissociating particle-associated mixed ruminal microorganism from ruminal digesta solids. *J. Anim. Sci.* 72: 1335-1343.
- Wilkerson, V.A., T. J. Klopfenstein, R. A. Britton, R. A. Stock, and P. S. Miller. 1993. Metabolizable protein and amino acid requirements of growing cattle. *J Anim Sci.* 71: 2777-2784.
- Yang, W. Z., K. A. Beauchemin, and L. M. Rode. 2001. Effects of grain processing, forage to concentrate ratio, and forage particle size on rumen pH and digestion by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84: 2203–2216.
- Zinn, R.A., and F.N. Owens. 1986. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. *Can. J. Anim. Sci.* 66: 157-166.
- Zinn, R.A. 1988. Comparative feeding value of supplemental fat in finishing diets for feedlot steers supplemented with and without monensin. *J. Anim. Sci.* 66: 213-227.
- Zinn, R.A. 1990. Influence of flake density on the comparative feeding value of steam-flaked corn for feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 68: 767-775.
- Zinn, R.A., and Y. Shen. 1998. An evaluation of ruminally degradable intake protein and metabolizable amino acid requirements of feed lot calves. *J. Anim. Sci.* 76: 1280-1289.
- Zinn, R.A., E.G. Alvarez, M.F. Montaña, and J.E. Ramirez. 2000. Interaction of protein nutrition and laidlomycin on feedlot growth performance and digestive function in Holstein steers. *J. Anim. Sci.* 78: 1768.
- Zinn, R. A., L. Corona, and A. Plascencia. 2005. Fat and protein supplementation of calf – fed Holstein steer. University of California, Davis.
- Zinn, R.A., J.F. Calderon, L. Corona, A. Plascencia, M.F. Montaña, and N. Torrentera. 2007. Phase Feeding Strategies to meet metabolizable Amino Acids requirements of calf-fed Holstein steer. *PAS.* 23: 496.