

Universidad Autónoma de Baja California

Instituto de Ciencias Agrícolas



**ECUACIONES PARA LA PREDICCIÓN DEL VALOR NUTRITIVO DE
ENSILAJE DE MAÍZ A PARTIR DE ESTUDIOS *IN VIVO* E *IN VITRO***

**PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
PRESENTA:**

ULISES AGUILAR SANCHEZ

**DIRECTOR DE TESIS
Dr. Enrique Álvarez Almora**

Mexicali, Baja California

Mayo, 2011

Esta tesis se realizo bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

Consejo Particular

DR. ENRIQUE ALVAREZ ALMORA
DIRECTOR

DRA. NOEMI GUADALUPE TORRENTERA OLIVERA
SECRETARIO

DR. MARTIN MONTAÑO
SINODAL

DR. FERNANDO CALDERON
SINODAL

DR. ALEJANDRO PLASCENCIA JORQUERA
SINODAL

Mexicali, B. C.

Mayo 2011

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Baja California y el Instituto de Ciencias Agrícolas por permitirme realizar mis estudios de Postgrado.

Al DREC por la facilidades proporcionadas durante mi estancia.

Al Ph. D. Richard A. Zinn por sus enseñanzas durante mi estancia en el DREC y colaboración en la realización y revisión de este trabajo.

Al Dr. Enrique Álvarez Almora por el apoyo brindado durante mis estudios y en la realización de este trabajo.

A la Dra Noemi Guadalupe Torrentera Olivera por sus clases y ayuda en la revisión de la presente tesis.

Al Dr. Martin Montaña por el conocimiento transmitido y su colaboración en la revisión de este trabajo.

Al Dr. Fernando Calderón Cortes por lo enseñado y su apoyo en la revisión de esta tesis.

A mis compañeros y amigos Jorge Yáñez, Adelfo Vite, Miguel Barreras, Lenin y Paco Loya, Juan Augusto, entre otros; gracias por su apoyo.

CONTENIDO

CARTA AL COMITÉ.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
CONTENIDO.....	IV
INTRODUCCION.....	5
REVISION DE LITERATURA.....	6
EN SILADO DE MAIZ.....	6
EL PROCESO DEL ENSILAJE.....	6
MADUREZ DE LA PLANTA.....	7
ALTURA DE CORTE.....	9
VALOR NUTRITIVO DEL ENSILADO DE MAIZ.....	9
ANÁLISIS DE ECUACIONES QUE ESTIMAN EL TDN.....	10
MATERIALES Y METODOS.....	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13
CONCLUSIONES.....	16
CUDROS Y FIGURAS.....	17
LITERATURA CITADA.....	20

INTRODUCCION

El almidón que se suministra a partir de granos o ensilado de maíz representa la mayor fuente de energía en la dieta para ganado de carne y leche. Por consiguiente, el valor alimenticio en el ensilado de maíz es dependiente y proporcional al contenido de grano en relación a otros componentes de la plata. Aunque la energía no está considerada como un nutriente, si es la primer limitante en la producción. Por consiguiente, la energía en el alimento debe ser estimada debido a que su obtención en pruebas de laboratorio es una práctica poco común por el costo económico que representa.

A partir de que el contenido de nutrientes digestibles totales (TDN) fue usado como un sistema para estimar valores de Energía Neta (NE), a la fecha varias técnicas han sido desarrolladas para expresar los valores nutricionales de los alimentos. Washko et. al. (1964) desarrollo una fórmula para predecir el TDN en ensilados de maíz a partir de análisis químicos de varios alimentos. Van Soest (1971) desarrollo un sistema para estimar valores de NE en la dieta basados en la digestibilidad de la material seca (DDM) y contenido de TDN. Con la necesidad de mejorar las estimaciones del valor nutritivo en los alimentos se han desarrollado ecuaciones sumativas cada vez más completas con un mayor número de constantes y variables (Weiss et al., 1992). Sin embargo, el uso de este tipo de ecuaciones en diferentes tipos de alimentos los resultados no siempre son consistentes. El objetivo de este estudio es analizar las diferentes ecuaciones que existen para estimar el TDN en ensilado de maíz como un indicador del valor nutritivo considerando datos de pruebas de digestión in vivo e in vitro.

REVISION DE LITERATURA

ENSILADO DE MAIZ

El proceso del ensilaje. El ensilaje de maíz es una técnica de preservación de la planta como forraje y se logra mediante una fermentación láctica bajo condiciones anaerobias. Durante este proceso, las bacterias fermentan los carbohidratos hidrosolubles del forraje produciendo altas concentraciones de ácido láctico y en menor cantidad ácido acético. La presencia de estos ácidos propicia que el pH del medio disminuya al punto de inhibir el desarrollo de bacterias que llegan a deteriorar la calidad de forraje a ensilar. Una vez que el forraje ha sido almacenado, compactado y cubierto para excluir el aire, el proceso de ensilaje presenta cuatro fases. **Fase aeróbica.** En esta fase, que dura solo unas pocas horas, el oxígeno presente en la planta es utilizado por su aun continua actividad respiratoria y el que no se eliminó por medio de la compactación por microorganismos aerobios y anaerobios facultativos como levaduras y enterobacterias. Existe además una actividad de enzimas proteasas y decarboxidasas que estará relacionada directamente con el pH del medio (6.5- 6.0). **Fase de fermentación.** Al momento de producirse un medio anaerobio, da inicio la fase de fermentación. Su duración está sujeta a dos factores importantes, el tipo de forraje y las condiciones de manejo bajo las cuales se llevo a cabo el ensilaje. Si existe un buen proceso de fermentación, la población bacteriana dominante será de tipo láctico; por consiguiente, los niveles de ácido láctico se elevaran y con ello una disminución del pH en un rango de 5.0 a 3.8. **Fase estable.** La ocurrencia de cambios

en esta fase están relacionados directamente con el mantenimiento de un medio anaerobio. Bajo estas condiciones muchos microorganismos sobreviven y se mantienen inactivos; otros, como clostridios y bacilos sobreviven como esporas. Ciertas enzimas (proteasas y carbohidrasas) y microorganismos (mayormente lactobacilos) que toleran medios ácidos, continúan con una actividad de media a baja.

Fase de deterioro aeróbico. Esta fase empieza con la apertura del silo y la exposición del ensilaje al medio ambiente. Durante el periodo de deterioro pueden identificarse dos fases: en la primera inicia el deterioro de los ácidos orgánicos que conservan el ensilaje, por acción de levaduras y bacterias que producen ácido acético. Esto induce a un aumento en el valor de pH y con ello el inicio de la segunda fase. Esta fase se caracteriza por el aumento de temperatura y la actividad de microorganismos que deterioran el ensilaje como bacilos, mohos y enterobacterias. El deterioro del ensilaje está sujeto al manejo, un mal manejo puede ocasionar pérdidas de hasta el 35%.

MADUREZ DE LA PLANTA.

El maíz es una planta tropical y aun que su cultivo se haya extendido a diferentes regiones climáticas, continua siendo mas sensible a la disminución de temperatura que otros gramíneas de igual distribución. Aunque factores ligados al suelo y al fotoperiodo son de importancia, el desarrollo de la planta a partir de su emergencia hasta que alcanza la madurez fisiológica continúa dependiendo en gran medida del calor acumulado. Por lo tanto, el tiempo a la madurez va a depender directamente de los días de siembras, condiciones climáticas durante el periodo de desarrollo y del

genotipo del híbrido. De acuerdo a diferentes definiciones, la madurez fisiológica en la planta de maíz es un estado que se presenta cuando la planta llega a su máximo desarrollo vegetativo; en este punto se alcanza la máxima acumulación de nutrientes así como de la materia seca e inmediatamente la fase vegetativa entra en un proceso de decadencia.

Conforme la planta madura, se presenta también un incremento en el contenido de fibra y lignina. Este incremento presenta un efecto negativo en el consumo así como en la digestibilidad de la fibra. En el caso del contenido de lignina, fracción que es prácticamente indigestible, se ha estimado que la digestibilidad de la materia seca (DMS) disminuye de 3 a 4% por cada unidad porcentual de aumento que se registra en el contenido de lignina (Linn and Martin, 1999). La concentración y consumo de energía digestible (ED) se ven también afectadas con el avance de la madurez. La concentración de ED en dietas con ensilado de maíz (70%) es ligeramente mayor cuando el corte se realiza en un estado en el que el grano presenta un estado pastoso o al equivalente a 1/3 de la línea de cristalización del almidón con respecto al observado en un corte a 2/3 de esta línea (3.07Mcal/kg vs 2.92Mcal/kg, respectivamente). Y aunque los resultados no son consistentes, se ha observado que con el aumento en la madurez, la ED disminuye de manera gradual (Johnson et al, 2002).

ALTURA DE CORTE.

Considerando que el tallo de la planta de maíz es la parte con mayor contenido de material estructural lignificado con respecto al resto de la planta, la eliminación de una

mayor cantidad de este al momento del corte puede ofrecer un ensilaje con bajo contenido de fibra. En un estudio desarrollado por la universidad de WA, Harrison and Van Wieringen (2000) obtienen una disminución en el rendimiento de forraje (14.2 vs 15.8 t h⁻¹) así como en el contenido de FDN (% MS) (20.6 vs 22.1) en una altura de corte de 50 y 10 cm, respectivamente, mientras que el contenido de almidón (%MS) muestra una tendencia opuesta (31.1 vs 28.4 en 50 y 10 cm, respectivamente. Este efecto de disolución se observa como resultado de la eliminación de la parte con mayor contenido de fibra y que se refleja en el aumento del contenido de almidón. Esta es una práctica que ha sido motivo de discusión y que al final el productor decide cual es el objetivo principal del ensilaje; fuente de fibra o fuente de energía.

VALOR NUTRITIVO DEL ENSILADO DE MAIZ.

El valor nutritivo de un alimento está determinado por el perfil de nutrientes y la disponibilidad de los mismos para ser transformados en energía.

El contenido de humedad al momento de la cosecha es uno de los factores mas importantes que determinan la calidad del ensilaje. La determinación del contenido de humedad está sujeta al tipo de silo que se va utilizar. Los contenidos de humedad que se recomiendan van de 65-70% para silos horizontales, 63-68% para silos de torre, 55-60% para silos con oxígeno limitado y de 65% cuando se utilizan bolsas. La línea de la leche en el grano de maíz no es un buen indicador del contenido de humedad, esta puede variar con el tipo de híbrido y las ocasionadas por las condiciones climáticas. Por lo tanto, el contenido de humedad debe ser medido, no estimado.

ANALISIS DE ECUACIONES QUE ESTIMAN EL TDN.

La prueba más común de estimar el valor energético de un alimento es mediante la estimación del contenido de nutrientes digestibles totales (TDN), valor que después se puede transformar a otras expresiones de energía usando ecuaciones ya establecidas (NRC 1984) . Para obtener el TDN es necesario realizar varias pruebas de laboratorio para obtener en primera instancia el cálculo individual de las diferentes fracciones nutricionales que integran un alimento, y en segundo lugar, por análisis de regresión, identificar la fracción o fracciones estimadoras que integraran la ecuación. A través del tiempo se han desarrollado diferentes ecuaciones y mejorado algunas de ellas así como técnicas usadas en el análisis de alimentos, sin embargo, el principio del TDN sigue siendo el mismo.

La mayor parte de las ecuaciones existentes que se usan para la estimación del TDN incluyen solo Lignina.

MATERIALES Y METODOS

Se usaron diez novillos Holstein equipados con cánulas en rumen, duodeno proximal (6 centímetros a partir del esfínter pilórico) e ileon distal (20 cm partir de la válvula ileocecal) en un diseño experimental cuadro latino incompleto.

En el desarrollo de la fase metabólica se utilizaron diez variedades híbridas de ensilados de maíz, mismas que fueron proporcionadas por Pioneer Hi-Bred International. La dieta basal (Tabla 1) consistió de 97% en ensilado de maíz y 3% de suplemento (base seca). Se adiciono Oxido crómico al 3% como marcador indigestible en la dieta. El consumo de materia seca fue restringido a 2.2 % del peso corporal. La alimentación fue ofrecida dos veces al día (0800 y 2000 h). El experimento consistió en la evaluación de 10 variedades de ensilados de maíz a través de cinco periodos con una repetición por tratamiento en cada uno de ellos. El periodo de adaptación a la dieta comprendió de 10 días. Después del periodo de adaptación a la dieta, se colectaron muestras de liquido duodenal, ileal y fecal dos veces por día durante cuatro días que comprendió el periodo de muestreo en los siguientes horarios: D1, 0750 and 1350 h; D2, 0900 and 1500 h; D3, 1050 and 1650 h; y D4, 1200 and 1800 h. La toma de muestras consistió de aproximadamente 700 ml de líquido duodenal, 200 ml de liquido ileal y 200 g (base húmeda) de heces. Las muestras tomadas de liquido duodenal, ileal y fecal de cada novillo en cada periodo fueron mezcladas para obtener un compuesto final previo a análisis posteriores. Durante el cuarto día de colección, muestras de líquido ruminal fueron obtenidas vía canula ruminal de cada novillo en intervalos de cuatro horas. El pH del líquido ruminal fue determinado por inmersión del electrodo del

medidor de pH en una muestra fresca recién extraída. Al final del periodo de colección, una muestra de líquido ruminal fue obtenida de cada uno de los novillos y preparada para aislamiento bacteriano utilizando la técnica de centrifugado diferencial (Bergen et al., 1968). El aislamiento microbio fue secado en caja de Petri a 70°C y después molido en mortero. Las muestras de alimento, duodeno y heces fueron preparadas para análisis y secadas a 70°C y después procesadas en un molino (Micro-Mill, Bel-Arts Products, Pequannock, NJ). Las muestras procesadas fueron secadas en estufa a 105°C y conservadas en frascos herméticos de vidrio. Las muestras fueron sujetas a todos o parte de los siguientes análisis: cenizas, nitrógeno amoniacal, nitrógeno Kjeldahl (AOAC, 1984), óxido crómico (Hill and Anderson, 1958), purinas (Zinn and Owens, 1986), FDN, energía bruta y almidón (Zinn, 1990). La materia orgánica microbio (MOM) así como el nitrógeno microbio (NM) que abandona el abomaso fue calculado usando purinas como un marcador microbio (Zinn and Owens, 1986). La materia orgánica fermentada (MOF) en el rumen fue considerada igual a la materia orgánica (MO) consumida menos la diferencia entre la cantidad del total de MO y MOM que alcanza el duodeno. El N del alimento que escapa al intestino delgado fue considerado igual al N total que abandona el abomaso menos el N amoniacal, NM y otras contribuciones endógenas. El experimento fue analizado como un cuadro latino incompleto 10x5 (Hicks, 1973).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto de tratamientos sobre el consumo diario de nutrientes de silo de maíz y sus características de digestión se presentan en la Tabla 2. No hubo diferencias en el consumo de MS, MO y N entre híbridos; 2.8, 2.7 y 0.038 kg.d⁻¹, respectivamente. El consumo de almidón estuvo relacionado con la concentración de almidón. Entre híbridos, el contenido de almidón es influenciado por la variedad así como dentro de la misma variedad. En el contenido de FDN y almidón se observa una tendencia de cambio entre nutrientes; es decir, mientras la FDN aumento ($P < .01$), el almidón disminuyó ($P < .01$). El grado de madurez afecta la relación almidón-fibra. Aunque el paso de nutrientes de almidón a FDN no es significativo, existe una tendencia de disminuir el contenido de almidón cuando el de fibra aumenta. Este efecto obedece al aumento en la madurez fisiológica de la planta relacionado con la acumulación de MS.

El promedio de la digestión ruminal y postruminal de la MO fue diferente entre híbridos (59 y 11%, respectivamente). Sin embargo, cuando el grado de madurez aumenta, la digestión ruminal de la MO disminuyó 7%; por consiguiente, el paso de MO a intestino delgado aumento 15%. En respuesta a este aumento, la digestión de MO en intestino grueso mostro un efecto compensatorio.

La digestión total de la MO El flujo ileal y excreción fecal de MO aumenta ($P < .05$) posiblemente en respuesta a un aumento en el contenido de NDF y en el grado de madurez.

El consumo de MO y N fue igual entre híbridos; sin embargo, la eficiencia microbial (gramos de N microbial/kilogramos de MO fermentada) se vio aparentemente

favorecida con el aumento de madurez ($P < .1$). Aun cuando en la mayoría de híbridos el consumo de nutrientes fue homogéneo, el aumento en el grado de madurez propicio que la digestión en rumen de MO, NDF y almidón disminuyeran y se observara una mayor eficiencia microbiana. Muestra de ello es el aumento en flujo de MO de íleon así como su digestión en intestino delgado y órganos del intestino grueso. Contrariamente, los híbridos que tuvieron mayor digestión de almidón y fibra en rumen, en promedio la eficiencia microbiana se vio reducida en 25%.

La digestión ruminal del almidón fue diferente entre híbridos ($P < .01$). Los valores de digestión del almidón en rumen y tracto bajo fueron proporcionales al flujo o la fracción de este que escapa del abomaso, efecto compensatorio, debido a que la cinética de la reacción sustrato-producto en ambos sitios es considerada de primer orden. Por consiguiente, la digestión ruminal mayor con respecto a la menor, 93.3 vs 79.5, respectivamente, se registró una variación de 15% ($P < .05$). La digestión ruminal del almidón también fue afectada por el aumento de madurez. Las diferencias en la relación almidón-fibra en la planta determinan su digestión y flujo a duodeno. Este efecto se pudo presentar a causa del genotipo del grano así como de su grado de madurez. Philippeau and Michalet-Doreau (1998) revisaron el efecto de ensilar maíz de grano dentado y duro. En el reportaron que cuando ...

La digestión del almidón en intestino delgado fue diferente entre híbridos ($P < .01$). La digestión de almidón en el intestino delgado es en cierta medida proporcional a la cantidad que abandona el abomaso. El grado de madurez afecta la digestión del almidón en los diferentes puntos del aparato digestivo, por lo tanto la digestión total se

ve reducida así como el contenido de almidón en heces. La digestión ruminal de la FDN disminuyó ($P < 0.1$) conforme el contenido de fibra en la planta aumentó. Entre híbridos, la digestión ruminal de la fibra que varió de 33.8 a 24.4% representó una diferencia de 27%; mientras que con el avance en la madurez de la planta, la diferencia alcanza solo 9%. Sin embargo, factores como el genotipo, grado de madurez así como la relación de constituyentes químicos en la planta son determinantes en la digestión de la fibra.

Aunque no hubo diferencias ($P > 0.1$) en la digestión de fibra en intestino delgado, en intestino grueso se presentó una contribución importante de digestión fibrolítica por órganos especializados. La digestión total de la fibra así como su contenido en heces difiere ($P < .01$) entre híbridos y parte de esta respuesta es explicada por el contenido de fibra consumida. En respuesta al patrón de consumo y a las posibles diferencias en contenido de FDN entre híbridos, la digestión en tracto total continuo mostrando una tendencia al nivel de consumo.

No hubo diferencias en el consumo, digestión en intestino delgado y flujo a tracto bajo de N entre híbridos ($P > .1$). El alto grado de digestión en rumen e intestino grueso, hace que el contenido de N en heces del híbrido 5 se vea reducido en 17% con respecto al híbrido 10. De esta manera, la mayor y menor digestión total del N fue para el híbrido 5 y 10 con 61.1% y 54%. A causa de un aumento en el contenido de N en heces, la digestión total del N se ve reducida en 12%.

CONCLUSIONES

Mientras que la lignina y el contenido de almidon fueron los mejores predictores para la estimacion in vitro de la material seca, de manera consistente la FDA y fraccion de N insoluble tanto en la FDA como la FDN, asi como el contenido de cenizas los que major predican los valores de digestion en vivo, tanto en rumen como en el tracto total.

Existe una tendencia de disminuir el contenido de almidon cuando el de fibra aumenta. Cuando el grado de madurez en la planta aumenta, la digestion ruminal de la MO disminuyo 7%; por consiguiente, el paso de MO a intestino delgado aumento 15%. En respuesta a este aumento, la digestion de MO en intestino grueso mostro un efecto compensatorio.

Aun cuando en la mayoria de hibridos el consumo de nutrientes fue homogeneo, el aumento en el grado de madurez propicio que la digestion en rumen de MO, NDF y almidon disminuyeran y se observara una mayor eficiencia microbial. Contrariamente, los hibridos que tuvieron mayor digestion de almidon y fibra en rumen, en promedio la eficiencia microbial se vio reducida en 25%.

Las diferencias en la relacion almidon-fibra en la planta determinan su digestion y flujo a duodeno. Este efecto se pudo presentar a causa del genotipo del grano asi como de su grado de madurez.

CUADROS Y FIGURAS

Tabla 1. Composición de la dieta experimental ofrecida a novillos Holstein.

Ingredientes de la dieta, %MS	
Ensilaje de Maíz	97.00
Suplemento, % MS ^a	
Piedra caliza	.70
Sal	.35
Urea	.60
Melaza	.05
Composición de nutrientes, MS	
ENm, Mcal/kg	1.405
ENg, Mcal/kg	0.822
EM, Mcal/kg	2.286

^a Se adiciono oxido crómico al 0.3%

TABLA 2. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO CORRESPONDIENTE A HÍBRIDOS DE MAÍZ EMPLEADOS EN LA PRUEBA METABÓLICA.

Componente, %MS	Ensilaje									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
MS, %	34.10	36.30	38.50	37.00	36.60	37.00	32.80	35.80	44.00	43.00
Almidón	30.23	37.87	35.40	33.52	34.90	37.62	33.97	36.02	39.06	41.87
PC	06.72	07.07	06.12	06.33	06.44	06.31	07.10	06.83	06.29	06.54
FDN	35.04	37.26	32.40	31.77	31.19	30.88	28.15	35.46	31.16	29.94
FDA	20.30	20.59	20.34	20.29	20.30	18.13	17.51	19.03	16.76	16.73
Lignina	21.41	21.85	21.80	21.15	22.86	19.87	18.30	19.42	17.25	17.16
EE	02.81	02.70	02.64	02.86	02.66	02.37	02.50	02.21	02.27	02.29
Ceniza	04.05	04.02	04.25	04.54	03.95	04.18	03.78	03.93	03.78	03.92
NI-FDN, %Nt	09.24	07.81	07.22	06.68	06.54	07.13	05.83	06.94	07.44	07.32
NI-FDA, %Nt	05.59	04.28	05.34	04.82	04.97	05.73	03.90	04.35	03.61	03.53
Fibra cruda ^{1a}	27.49	27.49	27.49	27.49	27.48	27.49	27.49	27.49	27.50	27.50
Pared celular ^{1b}	29.09	29.09	29.09	29.09	29.07	29.08	29.10	29.11	29.11	29.11
Celulosa ^{1c}	04.83	04.83	04.82	04.83	04.81	04.82	04.84	04.84	04.84	04.84
Hemicelulosa ^{1d}	29.78	29.77	29.77	29.78	29.75	29.80	29.84	29.82	29.86	29.86

¹ Componentes calculados mediante ecuaciones de regresión usando una base de datos (n=11) de NRC 1984.

^a La ecuación presento una R=.73

^b La ecuación presento una R=.85

^c La ecuación presento una R=.97

^d La ecuación presento una R=80

Tabla 3. Efecto del ensilaje de Maíz sobre la función digestiva en novillos Holstein

Componente	Ensilaje										DE
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Consumo, kg/d											
MS	2.86	2.90	2.83	2.83	2.86	2.84	2.87	2.87	2.87	2.91	.27
MO	2.70	2.74	2.67	2.67	2.70	2.68	2.71	2.72	2.72	2.75	.25
Almidón	.98 ^d	1.14 ^{ab}	1.08 ^{bcd}	1.05 ^{cd}	1.07 ^{bcd}	1.12 ^{abc}	1.11 ^{bcd}	1.15 ^{ab}	1.18 ^{ab}	1.14 ^{abc}	.10
FDN	1.04 ^a	.96 ^{ab}	.95 ^{ab}	.96 ^{ab}	.96 ^{ab}	.90 ^b	.92 ^b	.91 ^b	.90 ^b	.94 ^{ab}	.08
N	.39	.39	.38	.39	.39	.39	.39	.39	.38	.39	.03
GE, Mac/d	11.9	12.1	11.8	11.8	11.9	11.9	12	12	12	12.2	1.1
Digestión ruminal, %											
MO	57 ^{abc}	58.4 ^{ab}	61.7 ^{ab}	56.8 ^{bc}	63.7 ^{ab}	62.9 ^{ab}	62.4 ^{ab}	64.3 ^{ab}	56.3 ^{bc}	49.1 ^c	.06
Almidón	89.9 ^{abc}	88.9 ^{abc}	91 ^{ab}	84.6 ^{bc}	92.7 ^a	87.1 ^{abc}	89.7 ^{abc}	93.3 ^a	83.8 ^{cd}	79.5 ^d	.05
FDN	31.8 ^a	28.3 ^a	32.3 ^a	24.4 ^{ab}	27.7 ^{ab}	33.8 ^a	33.6 ^a	30.7 ^a	26 ^{ab}	15.2 ^b	.10
N en alimento	70.3 ^b	75.4 ^{ab}	75.3 ^{ab}	85.9 ^{ab}	86.9 ^a	79 ^{ab}	74.5 ^{ab}	79 ^{ab}	76.2 ^{ab}	79.5 ^{ab}	.12
Eficiencia microbiana	22.8 ^{ab}	24 ^{ab}	22.6 ^{ab}	25.9 ^{ab}	21.4 ^{ab}	23.1 ^{ab}	29.3 ^{ab}	20.4 ^b	23.5 ^{ab}	32.4 ^a	7.73
Eficiencia proteica	1.18 ^{ab}	1.22 ^{ab}	1.22 ^{ab}	1.13 ^b	1.06 ^b	1.19 ^{ab}	1.38 ^a	1.10 ^b	1.17 ^{ab}	1.28 ^{ab}	.19
Digestión en intestino delgado, %											
MO	25.6	31.8	23.9	26.7	20	29.8	34.1	25	35.3	37.2	.12
Almidón	80.6 ^{ab}	84.9 ^a	83.5 ^{ab}	86.4 ^a	84.9 ^a	88.4 ^a	86.4 ^a	74.6 ^b	88.6 ^a	89.6 ^a	.07
NDF	-3	3.9	-5.1	.9	1.7	3.2	4.9	3	5.4	6.7	.13
N	62.9	62.5	61.2	62.2	59.8	63.7	67.7	60.1	62.8	63.4	.06
Digestión en intestino grueso, %											
MO	19.2 ^a	7.2 ^{bc}	15.5 ^{ab}	6.3 ^d	9.2 ^{bc}	9 ^{bc}	12.4 ^{abc}	9.3 ^{bc}	10 ^{bc}	13.8 ^{abc}	.06
Almidón	9.5	-75.8	-52.6	-86.8	-127	-103	-20	-70.3	-80.3	-119.7	1.1
NDF	15.4 ^a	5.2 ^{abc}	12 ^{abc}	3.3 ^c	2.7 ^c	2 ^c	5.6 ^{abc}	3.7 ^{bc}	6.5 ^{abc}	13.8 ^{ab}	.08
N	6.8 ^{ab}	4.8 ^{ab}	7.9 ^{ab}	-1.3 ^b	10.4 ^a	6.7 ^{ab}	4.6 ^{ab}	6.2 ^{ab}	3.9 ^{ab}	3.8 ^{ab}	.08
Excreción fecal, g/d											
MO	897 ^{ab}	963.2 ^a	895 ^{ab}	1018 ^a	953 ^{ab}	851.7 ^{ab}	793.2 ^b	877 ^{ab}	896.5 ^{ab}	892.8 ^a	127.2
Almidón	18 ^b	30.4 ^{ab}	24 ^b	35.3 ^{ab}	23.6 ^b	27.8 ^b	14.9 ^b	22.6 ^b	30.6 ^{ab}	48.8 ^a	18.7
NDF	609.2 ^{abc}	622.7 ^{abc}	593 ^{abc}	692.1 ^a	655.6 ^{ab}	567.8 ^{bc}	526.8 ^c	585.7 ^{abc}	590.1 ^{abc}	621.3 ^{abc}	95.5
N	16.6 ^{ab}	17.7 ^{ab}	17 ^{ab}	16.7 ^{ab}	15.2 ^b	15.3 ^b	16.3 ^{ab}	16.6 ^{ab}	16.4 ^{ab}	18.4 ^a	2.4
GE, Mcal/d	4.3 ^{ab}	4.6 ^a	4.3 ^{ab}	4.8 ^a	4.5 ^{ab}	4.1 ^{ab}	3.8 ^b	4.2 ^{ab}	4.3 ^{ab}	4.7 ^a	.59
Digestión en tracto total, %											
MO	66.8 ^{bcd}	65 ^{cd}	66.6 ^{bcd}	61.8 ^e	64.6 ^{de}	68.2 ^{ab}	70.8 ^a	67.7 ^{bc}	67.2 ^{bcd}	64.5 ^{de}	.02
Almidón	98.1 ^a	97.2 ^{ab}	97.6 ^{ab}	96.6 ^{ab}	97.7 ^{ab}	97.4 ^{ab}	98.6 ^a	98 ^a	97.3 ^{ab}	95.7 ^b	.02
NDF	41.5 ^{ab}	35.8 ^{abc}	37.8 ^{abc}	28.2 ^d	31.5 ^{cd}	37.2 ^{abc}	42.8 ^a	35.6 ^{abcd}	35.6 ^{abcd}	34.4 ^{bcd}	.05
N	57.7 ^{abcd}	55.3 ^{cd}	55.1 ^{cd}	56.5 ^{bcd}	61.1 ^a	60.7 ^{ab}	58.6 ^{abc}	58.1 ^{abcd}	57 ^{abcd}	54 ^d	.03
ED, Mcal/kg	2.66 ^{bcd}	2.6 ^{cd}	2.66 ^{bcd}	2.48 ^e	2.59 ^{cde}	2.74 ^{ab}	2.85 ^a	2.73 ^{abc}	2.69 ^{bc}	2.57 ^{de}	.09

^{abcde} Entre renglones, medias sin una literal común son diferentes ($P \leq 0.05$).

Tabla 4. Comparativo de valores obtenidos en pruebas de digestión.

Ensilaje	Digestión, %MO	
	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i> ¹
1	66.8	66.7
2	65	66.8
3	66.6	66.5
4	61.8	66.7
5	64.6	65.4
6	68.2	67.8
7	70.8	68.9
8	67.7	67.6
9	67.2	69.2
10	64.5	66.2

¹ 48 h de digestión bajo el principio de la técnica de Tilley and Terry(1963).

Coheficientes de regression ($P < 0.05$; $\beta_1 \neq 0$) que mayor predicen los valores de digestion in vivo en el tracto total (TDG), Digestibilidad in vitro de la material seca (DIV) y digestion in vivo de la materia seca en el rumen (RDG)									
	INTERCEP TO	ADF	NDF	LGN	INNDF	INADF	ASH	STCH	R ²
TDG	113.0085	2.6410		-2.7388	-1.4582	4.2162	-12.5484		.8511
DIV	83.0362			-0.5175				-0.1501	0.5342
RDG	90.6607		1.0290		-5.4657	6.0757	-13.1753		0.9314

Matriz con los Coeficientes de correlación de Pearson (N = 10, Prob > |r| suponiendo H0: Rho=0) entre los estimadores de la digestión in vivo e in vitro y la composición porcentual de las fracciones bromatológicas de los ensilados en estudio.

	TDG	DIV	RDG	STCH	CP	NDF
TDG	1.00000	0.68802	0.45944	-0.08746	0.35152	-0.23379
		0.0279	0.1816	0.8101	0.3192	0.5156
DIV	0.68802	1.00000	0.13664	0.09089	0.20486	-0.25258
	0.0279		0.7066	0.8028	0.5702	0.4814
RDG	0.45944	0.13664	1.00000	-0.42218	0.08866	0.09662
	0.1816	0.7066		0.2242	0.8076	0.7906
STCH	-0.08746	0.09089	-0.42218	1.00000	-0.14776	-0.18838
	0.8101	0.8028	0.2242		0.6837	0.6022
CP	0.35152	0.20486	0.08866	-0.14776	1.00000	0.28480
	0.3192	0.5702	0.8076	0.6837		0.4251
NDF	-0.23379	-0.25258	0.09662	-0.18838	0.28480	1.00000
	0.5156	0.4814	0.7906	0.6022	0.4251	
ADF	-0.43276	-0.60699	0.35412	-0.61734	0.00659	0.62794
	0.2116	0.0628	0.3154	0.0572	0.9856	0.0519
LGN	-0.38296	-0.64818	0.44233	-0.56874	-0.08156	0.48677
	0.2747	0.0427	0.2005	0.0862	0.8228	0.1536
EE	-0.47293	-0.48235	0.01032	-0.68468	0.01224	0.26583
	0.1675	0.1580	0.9774	0.0289	0.9732	0.4579
INNDF	-0.14811	-0.19634	-0.38174	-0.17636	-0.01116	0.62582
	0.6830	0.5867	0.2764	0.6260	0.9756	0.0529
INADF	-0.04397	-0.36106	0.45508	-0.58936	-0.35281	0.24158
	0.9040	0.3053	0.1863	0.0730	0.3173	0.5013
ASH	-0.59508	-0.41641	-0.00018	-0.31600	-0.47188	0.16716
	0.0696	0.2313	0.9996	0.3737	0.1685	0.6444
	ADF	LGN	EE	INNDF	INADF	ASH
TDG	-0.43276	-0.38296	-0.47293	-0.14811	-0.04397	-0.59508
	0.2116	0.2747	0.1675	0.6830	0.9040	0.0696
DIV	-0.60699	-0.64818	-0.48235	-0.19634	-0.36106	-0.41641
	0.0628	0.0427	0.1580	0.5867	0.3053	0.2313
RDG	0.35412	0.44233	0.01032	-0.38174	0.45508	-0.00018
	0.3154	0.2005	0.9774	0.2764	0.1863	0.9996
STCH	-0.61734	-0.56874	-0.68468	-0.17636	-0.58936	-0.31600
	0.0572	0.0862	0.0289	0.6260	0.0730	0.3737
CP	0.00659	-0.08156	0.01224	-0.01116	-0.35281	-0.47188
	0.9856	0.8228	0.9732	0.9756	0.3173	0.1685
NDF	0.62794	0.48677	0.26583	0.62582	0.24158	0.16716
	0.0519	0.1536	0.4579	0.0529	0.5013	0.6444
ADF	1.00000	0.95830	0.80111	0.26889	0.63524	0.58819
		<.0001	0.0053	0.4525	0.0484	0.0737
LGN	0.95830	1.00000	0.77006	0.18756	0.71176	0.53244
	<.0001		0.0092	0.6038	0.0210	0.1131
EE	0.80111	0.77006	1.00000	0.25559	0.51095	0.61167
	0.0053	0.0092		0.4760	0.1312	0.0602
INNDF	0.26889	0.18756	0.25559	1.00000	0.31950	0.07415
	0.4525	0.6038	0.4760		0.3682	0.8387
INADF	0.63524	0.71176	0.51095	0.31950	1.00000	0.60613
	0.0484	0.0210	0.1312	0.3682		0.0632
ASH	0.58819	0.53244	0.61167	0.07415	0.60613	1.00000
	0.0737	0.1131	0.0602	0.8387	0.0632	

LITERATURA CITADA

AOAC. 1990. Official methods of analysis. In: Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Helrich-kenneth ed. 15th edition. AOAC Inc. Arlington, Virginia.

Conrad, H.R., Weiss, W.P., Odwongo, W.O. and Shockey, W.L., 1984. Estimating net energy lactation from components of cell solubles and cell walls. *J. Dairy Sci.*, 67: 427-436.

Goering, H., and P. Van Soest. 1970. Forage Fiber Analysis. Agric. Hand. No. 379. ARS, USDA, Washington, DC.

NRC. 1984. Nutrient requirements of beef cattle (6th ed.). National Academy Press, Washington, DC.

NRC. 2000. Nutrient requirements of beef cattle (Update 2000). National Academy Press, Washington, DC.

Lofgreen, G.P., 1953. The estimation of total digestible nutrients from digestible organic matter. *J. Anim. Sci.*, 12: 359-365.

Schwab, E. C., R. D. Shaver, J. G. Lauer, and J. G. Coors. 2003. Estimating silage energy value and milk yield to rank corn hybrids. *J. Anim. Feed Sci. Technol.* 109:1-18.

Tilley, J., and R. Terry. 1963. A tow-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J. Br. Grassl. Soc.* 18:104-111.

Weiss, W. P, Conrad, H. R., and N. R. St Pierre. 1992. A theoretically based model for predicting total digestible nutrient values of forage and concentrate. *Anim. Feed Sci. and Tech.* (39) 95-110.

PUBLICACIONES ARBITRADAS

Álvarez E.G., **Aguilar S.U.**, Rodríguez G.E., Rodríguez G.J., Carrillo A.G., Zinn R.A. 2008. Valor Alimenticio Comparativo del Pasto Kikuyo (*Pennisetum Clandestinum*, Var. Whittet) en Dos Estaciones de Crecimiento con Ryegrass (*Lolium Multiflorum*) y Sudan (*Sorghum Sudanense*) Ofrecido a Novillos Holstein. *Interciencia* 33 (2): 135-139.

E. G. Alvarez, J. M. Pinos-Rodriguez, **U. Aguilar**, S. Espinoza, M. Montaña, N. Torrentera y J. Rodriguez. 2010. Effects of Exogenous Fibrolytic Enzymes on Intake, Duodenal Flow and Digestion in Steers Fed Diets With Whole or Cracked Pima Cottonseed *Acta Agriculturae Scandinavica*, Section A - Animal Science, 60: 2, 88 — 93.

VALOR ALIMENTICIO COMPARATIVO DEL PASTO KIKUYO (*Pennisetum clandestinum*, var. Whittet) EN DOS ESTACIONES DE CRECIMIENTO CON RYEGRASS (*Lolium multiflorum*) Y SUDAN (*Sorghum sudanense*) OFRECIDO A NOVILLOS HOLSTEIN

Alvarez E. G., Aguilar S. U., Rodríguez G. E., Rodríguez G. J., Carrillo A., Espinoza S.S., Gonzalez V.V., Plascencia J.A., Montano G. M., ¹Zinn R. A.

Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, B. C., México

¹University of California, Davis. El Centro CA.

ABSTRACT

Four Holstein steers (167 kg) with cannulas in the rumen and proximal duodenum were used in a 4 x 4 Latin Square design to evaluate the comparative feeding value of seasonal Kikuyugrass hay (*Pennisetum clandestinum* var. Whittet; winter and summer) vs summer (Sudangrass; *Sorghum sudanense*) and winter (Annual Ryegrass; *Lolium multiflorum* var. Oregon) grass hays. In general the experimental diets (88,4% OM, 35,5% NDF, and 11,8% CP) were formulated with forage, 70% and 30 % of supplement. There were no treatment effects ($P > 0,05$) on ruminal NDF and N digestion, ruminal microbial efficiency (grams MN/ kg OM fermented), and ruminal N efficiency (non-ammonia N entering the small intestine/ N intake). There were no seasonal effects (summer versus winter harvest; $P > 0,10$) on ruminal and total tract digestion of OM, N or NDF of kikuyugrass-based diets. Ruminal and total tract digestion of OM, NDF and N were similar ($P > 0,10$) for sudangrass- and kikuyugrass-based diets. However, ruminal digestion of OM and total tract digestion of OM and N was lower (19, 12, and 9%, respectively; $P < 0,05$) for the kikuyugrass-based diets than for the annual ryegrass-based diet. Kikuyugrass-based diets had higher ($P < 0,05$) ruminal

molar proportions of acetate, and acetate:propionate ratio than ryegrass- and sudangrass-based diets. There were not ($P > 0,05$) treatment effects on acetate:propionate ratio. Kikuyugrass has a feeding value similar to that of sudangrass hay. The Kikuyugrass has a feeding value with acceptable nutritive quality in the summer.

Key Words: Kikuyugrass, Ryegrass, Digestion, Rumen

RESUMEN

Cuatro novillos Holstein (167 kg) con cánulas en rumen y duodeno proximal fueron distribuidos en un diseño Cuadro Latino 4 X 4 para estimar el valor alimenticio comparativo del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*; cosechado en verano e invierno) con el de henos de gramínea de verano (Pasto sudan, *Sorghum sudanense*) e invierno (Ryegrass anual *Lolium multiflorum* var. *Oregon*). En general las dietas experimentales (88,4% MO, 35,5% FDN y 11,8% PC) se formularon con 70% de forraje, y 30% de suplemento. No hubo efecto de tratamientos ($P > 0,05$) en la digestión ruminal de la FDN, N, eficiencia microbiana ruminal (g de NM/kg de MO fermentada) y en la eficiencia ruminal del N (N no amoniacal que entra a tracto bajo/N consumido). No hubo efecto ($P > 0,10$) de la estación (forrajes cosechados en verano vs invierno) en la digestión ruminal y total de la MO, FDN y N en dietas con kikuyo. La digestión ruminal y total de la MO, FDN y N fueron similares ($P > 0,10$) para dietas compuestas por kikuyo y sudan. Sin embargo, la digestión ruminal y total de la MO y N fue baja para dietas con kikuyo a la observada con ryegrass ($P < 0,05$) (19, 12 y 9%, respectivamente). Las dietas con kikuyo presentaron una mayor ($P < 0,05$) proporción molar de acetato y relación acetato-propionato a la observada en ryegrass y sudan. No existió efecto de tratamientos ($P > 0,05$) en la relación acetato-propionato. Se concluye que kikuyo tiene un valor alimenticio similar a sudan. El kikuyo representa una alternativa en la alimentación animal como cultivo perenne con aceptable valor nutricional durante el verano.

Palabras claves: Pasto kikuyo, Ryegrass, Digestión, Rumen

INTRODUCCIÓN

Las gramíneas ryegrass, sudan y bermuda son el principal recurso forrajero durante el verano e invierno en los valles de Mexicali y San Luis Río Colorado. Es la estacionalidad la principal razón por la que el pastoreo se reduce a un máximo de 120 días, existiendo una restricción en la disponibilidad de pasturas en el periodo restante del año, de tal forma que un monocultivo perenne disminuiría esta época crítica. El pasto kikuyo (var. Whittet), gramínea tropical C₄ de origen africano, ha sido propuesto como una alternativa para crecer en el valle de Mexicali en los últimos años. La adaptabilidad del pasto Kikuyo a climas tropicales y mediterráneos radica en su capacidad para fotosintetizar en un amplio rango de temperaturas (Wilén y Holt, 1996), se ha reportado que en zonas desérticas extremas su sobrevivencia alcanza el 100% a temperaturas extremas de - 9°C (Bogdan, 1997). Bajo condiciones de clima templado también tiene un alto grado de desarrollo fenológico y tasa fotosintética (Hernández *et al.*, 2000) con aceptable producción de materia seca (Sowerby *et al.*, 2000). Aunque la decisión de establecer pasto kikuyo en el valle de Mexicali se ha fundamentado en términos agronómicos, su rendimiento nutricional no se ha evaluado ni comparado con los forrajes dominantes de la zona. En la actualidad solo se han realizado estudios de digestión *in situ* (Hernández *et al.*, 2000) e *in vitro* (Shultz, 2000), adoleciéndose de información referente a su digestión *in vivo* y de valores comparativos con forrajes prevalecientes en la zona. El objetivo del presente trabajo es comparar el valor

alimenticio del pasto kikuyo cosechado en verano e invierno con las gramíneas representativas de la región, que son los pastos Sudan y Ryegrass.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se llevo a cabo en la unidad experimental de metabolismo de rumiantes del Instituto de Ciencias Agrícolas (ICA) localizado a 50 Km del sur de Mexicali, Baja California, México (32° 25' N, 115° 10' W). Teniendo una a una altitud de 12 m (INEGI, 1993) y temperatura y precipitación media anual de 22° C y 75.9 mm respectivamente,.

Aspectos edafológicos. El pasto Kikuyo var. Whittet se estableció en un suelo de tipo franco-arcilloso de serie Gila en fase pesado, salino-sódico con un rango de sales de 4,7 a 13,8 mmhos/cm² y de 8,5 a 16,4% de sodio intercambiable. El pH del suelo fluctúa entre 7,9 a 8,4 con un manto freático sómero, con profundidades que varían de 90 a 215 cm.

Establecimiento de la pradera. El pasto kikuyo se estableció dentro del mismo ICA, en Abril 22 de 2002 en una superficie de 10,000 m². Para ello se utilizó una densidad de siembra de 4,5 kg/ha; dosis recomendada por el porcentaje de pureza y germinación. Los riegos se efectuaron cada 90 días. Los cortes de forraje se realizaron con máquina a una altura de 3 a 5 cm, empacándose en promedio seis días post-cosecha. Los pastos ryegrass anual y sudán se establecieron, cosecharon y henificaron en parcelas adyacentes al pasto kikuyo, en un radio no mayor de 500 m. Para ser convenientemente integrados a las dietas experimentales cada uno de los forrajes

henificados fueron procesados en un molino de martillos provisto de malla metálica con orificios de 2,5 cm de diámetro.

Cuatro novillos Holstein (167 kg) con cánulas tipo “T” en rumen y duodeno proximal (Zinn y Plascencia, 1993) se utilizaron en un diseño Cuadrado Latino 4 x 4. La composición de las dietas experimentales se muestra en el Cuadro 1. Los tratamientos consistieron en una dieta basal en la que alrededor del 68% fue sustituido por cada uno de los siguientes forrajes: 1) Heno de ryegrass (RG), 2) heno de pasto Sudán (PS), 3) Heno de pasto Kikuyo de verano (KV) y 4) Heno de pasto Kikuyo de invierno (KI). Se incluyó en la ración 0,3% de óxido crómico como marcador de la digesta. El consumo se ajustó al 2,6 % del peso vivo y diariamente se ofreció en cantidades iguales a las 0800 y 2000 h. Los cuatro periodos experimentales consistieron en 10 días de adaptación seguidos por cuatro días de colección de muestras. Durante el periodo de colección se tomaron muestras individuales de fluido duodenal y heces, dos veces por día con el siguiente horario: día 1, 0730 y 1330; día 2, 0900 y 1500; día 3, 1030 y 1630; y día 4, 1200 y 1800, de tal forma que el intervalo entre muestras fue de 90 minutos por un periodo de 12 h. En cada muestreo se colectaron aproximadamente 700 ml de quimo duodenal y 200 g de heces (base seca). El último día de colección de cada período, cuatro horas postalimentación (tiempo en que el pH es ± 0.2 similar al promedio de lecturas tomadas de 0 a 9 horas post-alimentación, verificado en las publicaciones de Cerrato-Sánchez et al., 2006; Zinn et al., 1988; Santra et al., 2007; Huntington et al., datos no publicados), se tomó una muestra de líquido ruminal, que fue filtrada en cuatro capas de gasa quirúrgica midiéndosele inmediatamente el pH. Para la estimación de Ácidos Grasos Volátiles (AGV) una alícuota de 80 ml de líquido

ruminal se mezcló en una proporción 4:1 con una solución 25% de ácido Meta-fosfórico (peso/volumen) y se almacenaron a -20 °C hasta su análisis. Para la determinación de AGV inicialmente las muestras fueron descongeladas y centrifugadas a 9,000 x *g* durante 10 minutos, para posteriormente de acuerdo al procedimiento de Hess et al. (2003) hacer la determinación de AGV mediante un cromatografo de gases (XL, Perkin Elmer Instruments; Shelton, CT) equipado con un detector de ionización por flama y columna capilar (Elite-FFAP, Perkin Elmer Instruments, 30 m largo x 0,32 diámetro interior x 0,25 μ m grosor de cobertura).

Similar al procedimiento descrito por Huhtanen y Khalili (1991) y Alvarez y Zinn (2007) para cuantificar el contenido total de líquidos y sólidos y FDN en el rumen, al finalizar el último muestreo de cada período se realizó el vaciado ruminal con una aspiradora convencional seco-líquido de 50,0 L, cuatro horas después de ofrecer el alimento por la mañana. El contenido total se mezcló y tomó una alícuota para estimar la proporción de fibra indigestible e inmediatamente fue regresado a la cavidad ruminal. En promedio el procedimiento completo se realizó en 18 $\pm$ 5 minutos por cada animal. Basándose en el modelo de Mertens y Ely, (1979) la tasa de pasaje (K_p) de la FDN se calculó de la siguiente manera: $K_p = ((FDNI * (1-DRFDN)) / (S * (RFDN/100)))/24$, donde: FDNI = consumo diario total de FDN, DRFDN = digestibilidad ruminal de FDN (%), S = sólidos en rumen (g), RFDN = FDN en rumen, como porcentaje del total de los sólidos ruminales. La tasa ruminal de digestión de FDN se determinó a partir de la relación: $DRFDN = K_d / (K_d + K_p)$. El modelo de Zinn y Salinas, (1999) fue usado para estimar el consumo diario de MS máximo esperado (CMSMX), como una función predecible del peso inicial mermado (PI, kg) o el peso promedio durante el intervalo de

interés (Peso, kg), FDN en la dieta (%), eFDN de forraje (FDN efectiva, expresado como porcentaje de FDN en el forraje), y el porcentaje de DRFDN; entonces: CMSMX, kg/d = $(0,001 * (0,098 * PI) + 26,24) * (Peso^{.75}) / (0,01FDN (1 - 0,01DRFDN) / ((0,77 - 0,00386eFDN) * (0,042FDN - 0,037 - 0,00031FDN^2)))$. Las muestras fueron sujetas a todos o parte de los siguientes análisis: Materia Seca (105 °C), Cenizas, N Kjendahl, N amoniacal (AOAC, 2000), Fibra Detergente Neutro (Chai y Uden, 1998), Oxido Crómico (Hill y Anderson, 1958), Purinas (Zinn y Owens, 1986) y ácidos grasos volátiles mediante cromatografía de gases (Zinn, 1988).

Mediante la estimación de purinas como marcador microbial se calculó la materia orgánica microbiana (MOM) y el N microbiano (NM) que llega a duodeno. La materia orgánica (MO) fermentada en rumen fue considerada igual a la MO consumida menos la diferencia entre la cantidad total de MO y MOM que llegan a duodeno. El N del alimento que escapa al intestino delgado fue considerado igual al N total que deja el abomaso menos el N amoniacal y NM de tal manera que esto incluye cualquier contribución endógena. La base logarítmica de los valores de pH no enmascara su distribución normal, de tal manera que el modelo utilizado en el presente experimento explico el 95% de su variación.

El experimento se analizó como un diseño Cuadrado Latino 4 x 4 con el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + C_j + H_k + \varepsilon_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} es la variable de respuesta, μ es la media poblacional, T_i efecto del i -ésimo tratamiento, C_j = efecto de la j -ésima repetición, H_k = efecto del k -ésimo período y ε_{ijk} error experimental. Los efectos de tratamientos fueron probados mediante los

siguientes contrastes ortogonales: Contraste 1: Kikuyo de invierno vs Ryegrass; Contraste 2: Kikuyo de verano vs Sudan; Contraste 3: Kikuyo de verano vs Kikuyo de invierno.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el Cuadro 2 se presenta el consumo diario de nutrientes durante el experimento y el efecto de sustituir diferentes gramíneas en la dieta basal de novillos Holstein sobre el flujo diario de componentes del quimo abomasal hacia el duodeno. Aún cuando se utilizó consumo restringido durante todo el experimento, las diferencias en composición de los forrajes y las distintas tasas de degradación ruminal de los componentes nitrogenados favorecieron que los flujos hacia el duodeno de N, NNA y NM fueran mayores ($P < 0,05$) en ryegrass comparado con el resto de los tratamientos. En el caso del flujo de FDN hacia el duodeno, este fue menor ($P < 0,05$) para el ryegrass, comparado con los otros tratamientos. Como se aprecia en el presente experimento, los flujos hacia el duodeno son generalmente relacionados con los niveles de consumo. Van Vuuren *et al.* (1992) señalan que éste es un importante factor en el total del flujo hacia el duodeno ya que en promedio un 65% de la MO ingerida y hasta un 80% del FDN consumida es digerido en el rumen.

La influencia de los tratamientos en las características de digestión ruminal y postruminal se presentan en el Cuadro 3. Todos los valores de digestión ruminal y postruminal fueron calculados sobre la base de cambio de concentración en el marcador oxido de cromo suministrado en la dieta. No existió efecto de la estación de corte del pasto kikuyo ($P > 0,01$) sobre la digestión ruminal de la FDN, degradabilidad del N del alimento (N degradable en rumen), eficiencia microbial ruminal (g de NM/kg de MO fermentada) y eficiencia ruminal del N (N no amoniacal que entra al intestino delgado/N consumido). Es posible que en el presente estudio, debido a que fue el

primer ciclo vegetativo del pasto kikuyo, el intervalo entre los meses de Agosto y Noviembre no fue lo suficientemente espaciado para resaltar mayores diferencias en parámetros digestivos. Sin embargo, en trabajos realizados por Carpenter *et al.* (1999) y Fulkerson *et al.* (1998) no encontraron diferencias en la composición química del pasto kikuyo por la época de corte y método de almacenamiento, pero si en algunos parámetros de la función digestiva al comparar en ambos experimentos con un forraje de mayor calidad como ryegrass anual o perenne.

Como era de esperarse el tratamiento a base de ryegrass registró una mayor ($P < 0,05$) digestión ruminal y postruminal de la MO y del N comparado con el resto de los tratamientos. Cervantes *et al.* (2000), Donaldson *et al.* (1989) y Beever *et al.* (1985) han coincidido en el mas alto valor nutritivo del pasto ryegrass debido a su mayor cantidad de nitrógeno y carbohidratos altamente solubles. Por el contrario, en el caso del kikuyo y el pasto sudán que son dos pasturas de verano, solo la digestión postruminal de la MO es equivalente a las que se observa en el ryegrass. El valor de digestión postruminal ha sido con frecuencia proporcional a la cantidad de quimo o fracción de este que abandona el abomaso, efecto compensatorio, debido a que la cinética de la reacción sustrato-producto tanto en rumen como en tracto bajo es considerada de primer orden.

La influencia de los diferentes tratamientos sobre la digestión postruminal y total de la MO, FDN y del N se observa en el Cuadro 4. La digestión total de la MS, MO y N en ryegrass fue 14, 13 y 6,8% mayor ($P < 0,05$) al promedio del resto de los tratamientos. La época de corte del pasto Kikuyo no influenció ($P > 0,10$) la

digestión postruminal y total de la FDN ni la digestión total de la MS, MO y FDN. No existieron diferencias ($P > 0,10$) entre el pasto Sudan y el pasto Kikuyo sobre la digestión total de la MS y la MO. Donaldson *et al.* (1991) reportan un valor similar de digestión de FDN (73,2%) en el pasto ryegrass.

El efecto de los tratamientos sobre la producción de AGV y la cinética de la digestión, a partir de la indigestibilidad de la FDN en el rumen, se presenta en el Cuadro 5. Las dietas con heno de kikuyo muestran una mayor ($P < 0,05$) producción de acetato y relación acetato:propionato a las observadas en ryegrass y sudan. En este experimento la dieta a base de ryegrass registró un menor pH que el resto de los tratamientos, de tal forma que concuerda con la relación presentada por varios autores (Russell y Wilson, 1996; Russell, 1987; Takeiro *et al.*, 1997) quienes sugieren que el aumento en la producción de acetato así como la mayor relación acetato-propionato es característico de dietas altas en forraje o con un pH cercano al neutro. En el presente estudio tanto k_p como k_d , calculados como $K_p = ((FDNI * (1-DRFDN)) / (S * (RFDN/100)))/24$ y K_d con la relación $DRFDN = K_d / (K_d + K_p)$ (donde: FDNI = consumo diario total de FDN, DRFDN = digestibilidad ruminal de FDN (%), S = sólidos en rumen (g), RFDN = FDN en rumen, como porcentaje del total de los sólidos ruminales), fueron mayores ($P < 0.01$) en la dieta a base de ryegrass que el promedio de los demás tratamientos. Esto coincide con los altos valores de pasaje y digestión observados en el pasto ryegrass anual o perenne en diversos estudios previos (Donaldson *et al.*, 1989; Espinoza *et al.*, 1999; Cervantes *et al.*, 2000).

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se realizo el presente estudio el valor nutritivo del pasto kikuyo no fue influenciado por la estación de corte, cuando el forraje se cosecho en similar estado de crecimiento. En este experimento el pasto kikuyo tiene un valor alimenticio similar al del pasto sudan, pero menor al de ryegrass anual.

REFERENCIAS

- Alvarez EG, and Zinn RA. 2007. Influence of site of casein infusion on voluntary feed intake and digestive function in steers calves fed a sudangrass-based growing diet. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 6(2):249-256.
- AOAC (2000) Official Methods of Analysis (17th ed.). Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, MD, USA. 2200 pp
- Beever DE, Thomson DJ, Ulyatt MJ, Cammell SB, Spooner MC (1985) The digestion of fresh perennial ryegrass (*Lolium perenne* L. cv. Melle) and white clover (*Trifolium repens* L. cv. Blanca) by growing cattle fed indoors. *Br. J. Nutr.* 54:763-775.
- Bogdan AV (1997) Pastos Tropicales y Plantas de Forraje (Pastos y Leguminosas) A.G.T. Editor S.A. México.
- Carpenter JR, Mathews BW, LeaMaster BR, Buckley BA, Niino-DuPonte RY (1999) Effect of stocking rate on cow-calf productivity while grazing improved kikuyu pasture during fall versus spring calving seasons. *J. Anim. Sci.* 77(Suppl. #1):209-210.
- Cerrato-Sanchez,, M., S. Calsamiglia, and A. Ferret. 2007. Effects of Patterns of Suboptimal pH on Rumen Fermentation in a Dual-Flow Continuous Culture System. *J. Dairy Sci.* 90:4368–4377.

- Cervantes RM, Álvarez CE, Torrentera ON, Mendoza MG, Espinoza SS, Velderrain FA, González S (2000) Época de corte y composición nutricional, sitio y grado de digestión de Ballico anual (*Lolium multiflorum*) en novillos. *Agrociencia*. 34:413-422.
- Chai W, Uden P (1998) An alternative oven method combined with different detergent strengths in the analysis of neutral detergent fiber. *Anim. Feed Sci. Technol.* 74:281-88.
- Donaldson RS, McCann MA, Amos HE, Hoveland CS (1989) Effects of implant and protein supplementation on steers grazing winter annuals. *J. Anim. Sci.* 67(Suppl. 2):34 (Abstr.).
- Donaldson RS, McCann MA, Amos HE, Hoveland CS (1991) Protein and fiber digestion by steers grazing winter annuals and supplemented with ruminal escape protein. *J. Anim. Sci.* 69:3067-71.
- Espinoza S, Álvarez E, Plascencia A (1999) Nutrient digestion of Italian rye grass and berseem clover (fresh or hay) to Holsteins. *Cuban J. Agric. Sci.* 33:25
- Fulkerson WJ, Slack K, Hennessy DW, Hough GM (1998) Nutrients in ryegrass (*Lolium* spp.), white clover (*Trifolium repens*) and kikuyu (*Pennisetum clandestinum*) pastures in relation to seasonal and stage of regrowth in a subtropical environment. *Aust. J. Exp. Agric.* 38:227-40.
- Hernández MO, Pérez PJ, Martínez HP, Herrera HJ, Mendoza MG, Hernández GA (2000) Pastoreo de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) por borregos en crecimiento a diferentes asignaciones de forraje. *Agrociencia*. 34:127-34.
- Hess, H. D., L. M. Monsalve, C. E. Lascano, J. E. Carulla, T. E. Di'az, and M.

- Kreuzer. 2003b. Supplementation of a tropical grass diet with forage legumes and *Sapindus saponaria* fruits: effects on in vitro ruminal nitrogen turnover and methanogenesis. *Aust. J. Agric. Res.* 54:703–717.
- Hill FN, Anderson DL (1958) Comparison of metabolizable energy and productive energy determination with growing chicks. *J. Nutr.* 64:587-603.
- Huhtanen P, Khalili H. 1991. Sucrose supplements in cattle given grass silage-based diet. *Anim. Feed Sci. Technol.* 33:275-287.
- INEGI (1993) Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática y Gobierno del Estado de Baja California. Anuario Estadístico del Estado de Baja California, Edición 1993. Aguascalientes, México. pp 3-7. México.
- Mertens, D. R., and L. O. Ely. 1979. A dynamic model of fiber digestion and passage in the ruminant for evaluating forage quality. *J. Anim. Sci.* 49:1085-1095.
- Russell JB (1987) Effect of extracellular pH on growth and proton motive force of *Bacteroides succinogenes*, a Cellulolytic ruminal bacterium *Microbial Vol.* 53, No. 10. pp 2379-2383.
- Russell J B, Wilson D B (1996) Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? *J. Dairy Sci.* 79:1503-1509.
- Santra, A., S.A. Karim, and O.H. Chaturvedi. 1996. Rumen enzyme profile and fermentation characteristics in sheep as affected by treatment with sodium lauryl sulfate as defaunating agent and presence of ciliate protozoa *Small Ruminant Research* 67 (2007) 126–137
- Shultz T (2000) *Amazing Grazing*. Informative gazette. Agrotera Corp.

- Takeiro M, Hidetake E, Juzoh U, Hino T (1997) Activity H⁺ ATP ase ruminal bacteria with special reference to acid tolerance. *Microbial*. 63(6):2155-2158.
- Zinn RA, , EG Alvarez, M Montano, and J Salinas-Chavira. 2007. Influence of dry rolling and tempering agent addition during the steam-flaking of sorghum grain on the feeding value for feedlot cattle. *J Anim Sci* 2007 : jas.2007- 0491v1
- R. A. Zinn, L. S. Bull, R. W. Hernken, F. S. Button, C Enlow, and R. W. Tucker apparatus for Measuring and Subsampling Digesta in Ruminants Equipped with Reentrant Intestinal Cannulas. *J Anim Sci* 1980 51: 193-201.
- Zinn RA, Owens FN (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., Plascencia, A., 1993. Interaction of whole cottonseed and supplemental fat on digestive function in cattle. *J. Anim. Sci.* 71, 11–17.
- Zinn R A, Salinas J. Influence of Fibrozyme on digestive function and growth performance of feedlot steers fed a 78% concentrate growing steers. *In: Biotechnology in the Feed Industry, Proc. 14th Annual Symp TP Lyons and KA, Jacques (Eds).* pp 313-319. Nottingham University Press. UK:1999.
- Zinn RA (1988) Comparative feeding value of supplemented fat in finishing diets for feedlot steers supplemented with and without monensin. *J. Anim. Sci.* 66: 213-227.

Van Vuuren A.M., F. Krol-kramer, R.A. Van Der Lee and H. Corbijn. 1992. Protein digestion and intestinal amino acids in dairy cows fed fresh *Lolium perenne* with different nitrogen contents. J. Dairy Sci. 75: 2215-2225.

CUADRO 1

DIETAS EXPERIMENTALES PARA MANTENIMIENTO DE NOVILLOSHOLSTEIN.

	Tratamiento ^a			
	RG	PS	KV	KI
Ingredientes de la dieta, % (base MS) ^b				
Melaza	4,16	4,26	4,26	4,26
Heno	69,97	66,77	66,77	66,77
Grasa amarilla	1,78	2,74	2,74	2,74
Piedra caliza	0,88	0,9	0,9	0,9
Harina de pescado	1,96	3,01	3,01	3,01
Urea	0,89	0,46	0,46	0,46
Sal	0,44	0,45	0,45	0,45
Trigo rolado	19,63	19,59	19,59	19,59
Harina de soya		1,52	1,52	1,52
Composición ^c del forraje				
MO, %	87,34	90,72	87,65	83,58
FDN, %	19,33	41,77	40,05	36,82
N, %	2,21	1,51	1,76	2,09
EB, Cal/g MS	3302	3638	3177	3126

^a Tratamientos: RG=ryegrass, PS=Pasto Sudán, KV=Kikuyo de verano, KI = Kikuyo de invierno..

^b Se adiciono oxido crómico (,30%) a la ración como marcador de la digesta.

^c MO = Materia orgánica, FDN = Fibra detergente neutro, N = Nitrógeno total, EB = Energía bruta.

CUADRO 2

CONSUMO Y FLUJO DE NUTRIENTES A DUODENO EN DIETAS DE GRAMÍNEAS OFRECIDAS A NOVILLOS HOLSTEIN.

Variables ^a	Tratamiento ^b				
	RG	PS	KV	KI	EE ^c
Consumo, g/d.					
MS	4045	4088	4105	4055	3
MO	3604	3712	3615	3485	57
FDN	770	1494	1450	1318	227
N	88	68	76	85	7
Flujo a duodeno, g/lt.					
MO	44,0	55,1	47,8	39,2	11,8
FDN ^d	9,9	22,5	17,5	13,8	3,9
N ^e	2,3	1,8	1,6	1,5	0,4
NNA ^e	2,2	1,8	1,6	1,4	0,4
NM ^e	1,5	1,1	0,9	0,7	0,3
NSP	0,74	0,66	0,78	0,66	0,2

^a Variables: MS=Materia seca, MO=Materia orgánica, FDN=Fibra neutro detergente, N=Nitrógeno en alimento, NNA=Nitrógeno no amoniacal, NM=Nitrógeno de origen microbial, NSP=Nitrógeno de sobre paso.

^b Tratamientos: RG=ryegrass, PS=Pasto Sudán, KV=Kikuyo de verano, KI = Kikuyo de invierno.

^c Error estándar de la media.

^d Efecto entre PS vs KV (P< 0,05).

^e Efecto entre RG vs KI (P< 0,05).

CUADRO 3

EFFECTO DE TRATAMIENTOS SOBRE LA DIGESTIÓN RUMINAL Y POSTRUMINAL EN DIETAS DE GRAMÍNEAS OFRECIDAS A NOVILLOS HOLSTEIN.

Variable ^a	Tratamiento ^b				
	RG	PS	KV	KI	EE ^c
Digestión ruminal, % de ingestión					
MO ^e	73,9	65,2	61,8	59,6	4,8
FDN	57,8	49,4	53,7	52	12,5
N	73,5	71,1	67,2	65,7	8,0
EfM	18,3	13	14	16,5	2,6
EfN	0,82	0,77	0,74	0,74	0,1
Digestión postruminal, % de flujo a duodeno					
MO ^{de}	64	42	49,4	51,6	3,8
FDN	41,2	19,5	27,5	34,4	7,2
N ^d	75,1	67,5	69,1	63,9	4,2

^a Variables: MO=Materia orgánica, FDN=Fibra detergente neutro, N=Nitrógeno, EfM=Eficiencia microbiana, g N microbiano/kg MO fermentada; EfN=Eficiencia del nitrógeno, g N no amoniacal en duodeno/g N consumido.

^b Tratamientos: RG=ryegrass, PS=Pasto Sudán, KV=Kikuyo de verano, KI = Kikuyo de invierno.

^c Error estándar de la media. ^d Efecto entre PS vs KV (P< 0,05).

^e Efecto entre RG vs KI (P< 0,05).

CUADRO 4

EFFECTO DE TRATAMIENTOS SOBRE LA DIGESTIÓN POSTRUMINAL Y TOTAL EN DIETAS DE GRAMÍNEAS OFRECIDAS A NOVILLOS HOLSTEIN.

VARIABLE ^a	TRATAMIENTOS ^b				EE ^c
	RG	SG	KV	KI	
Digestión total, %					
MS ^e	83,9	73,8	74,7	72,3	3,3
MO ^e	85,7	74,9	76,6	75,7	3,6
FDN	75,2	58,5	66,4	68,8	10,9
N ^b	79	74	76	72	3
Digestión postruminal, % de ingestión					
MO ^d	25,4	18,2	23,3	25,7	2,3
FDN	17,3	9,2	12,7	16,8	4,3
N ^e	63,3	54,4	54,4	49,3	7,2

^a Variables: MS=Materia seca, MO=Materia orgánica, FDN=Fibra detergente neutro, N=Nitrógeno.

^b Tratamientos: RG=ryegrass, PS=Pasto Sudán, KV=Kikuyo de verano, KI = Kikuyo de invierno.

^c Error estándar de la media.

^d Efecto entre PS vs KV (P< 0,05).

^e Efecto entre RG vs KI (P< 0,05).

CUADRO 5

EFFECTO DE TRATAMIENTOS SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES (AGV), Kp Y Kd EN NOVILLOS HOLSTEIN.

Variable ^a	Tratamiento ^b				
	RG	SG	KV	KI	EE ^c
pH ^e	5,46	6,2	6,26	6,08	0,18
AGV ruminales, mol/100 mol					
AC ^{de}	61,6	67,4	76,2	73,4	4,1
PR	21,2	18,1	14,1	15,5	3,8
BU ^e	17,24	14,46	9,72	11,03	3,35
AC:PR	2,98	4,03	5,78	4,84	1,44
Cinetica de digestión de FDN					
Kd ^e	13,95	5,95	5,45	6,5	3,95
Kp	9,77	4,74	4,7	5,86	0,02
Contenido en rumen					
Contenido Total, kg ^e	16,8	23,2	22,9	22,3	1,6
MS, %	12,8	14,1	14,9	13,5	4,0
Sólidos, kg	2,13	3,35	3,45	2,91	1,05
Líquidos, kg ^e	14,7	19,8	19,4	19,4	1,1
FDN, % ^{def}	37,0	55,6	51,8	47,9	2,1

^a Variables: pH=Potencial Hidrogeno, AC=Acetato; PR=Propionato, BU=Butirato, AC:PR=Relación Acetato:propionato, Kd=Tasa de digestión, Kp=Tasa de pasaje, MS=Materia seca, FDN=Fibra detergente neutro

^b Tratamientos: RG=ryegrass, PS=Pasto Sudán, KV=Kikuyo de verano, KI = Kikuyo de invierno.

^c Error estándar de la media.

^d Efecto entre PS vs KV (P< 0,05).

^e Efecto entre RG vs KI (P< 0,05).

^f Efecto entre KV vs KI (P< 0,05).

Running title: Enzymes and cottonseed in steers

Effects of exogenous fibrolytic enzymes on intake, duodenal flow and digestion in steers fed diets with whole or cracked Pima cottonseed

E.G. Álvarez ¹, J.M. Pinos-Rodríguez ², U. Aguilar ¹, S. Espinoza ¹, M. Montano-Gómez ³, N. Torrentera-Olivera ³, J. Rodríguez ¹

¹ Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, México.

² Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México

³ Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, México.

Corresponding author: Dr. Juan M. Pinos-Rodríguez. Altair No. 200, Fracc. del Llano, San Luis Potosí, 78377, S.L.P. México. Tel./Fax: +52 444 842 2959. E-mail address: jpinos@uaslp.mx

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of exogenous fibrolytic enzymes on intake, ruminal fermentation, duodenal flow and digestion in steers fed diets with whole (WCP) or cracked Pima cottonseed (CPC). Four Holstein steers (167 ± 5 kg body weight) fitted with ruminal and duodenal cannulas with a 4 x 4 Latin square in a 2 x 2 factorial arrangement of treatments (WCP or CPC; and 0 or 15 g enzyme) were used. Diets was 82% wheat flaked concentrate based with 9.95% of Pima cottonseed as dry matter (DM) basis.

Daily DM intake and ruminal pH were similar by treatments. Enzymes increased total volatile fatty acids concentration in rumen of steers fed WPC, but not fed CPC. Enzymes with WPC increased molar proportion of acetate, but with CPC it was reduced. Enzymes did not affect daily intake. Feeding enzymes increased duodenal flow of OM in steers fed WPC but not with CPC. Enzymes also increased duodenal flow of N, non-ammonia N, intestinal digestion of N, and N efficiency in steers fed either WPC or CPC.

Key words: digestion, duodenal flow, fibrolytic enzymes, Pima, whole cottonseed.

Introduction

Whole cottonseed (WCS) and associated products, such as partially delinted and pelleted or partially delinted cottonseed products, provide fiber, fat, and protein in one package and therefore have potential for decreasing costs of handling and storing commodities (Cranston *et al.*, 2006). According to the studies summarized by Arieli (1998), dry matter (DM) intake of dairy cattle is not altered when WCS is included at up to 25% of the diet. However, in some other studies summarized by Zhang *et al* (2007) a decline in DM intake occurred with WCS feeding was probably related with the higher fiber content of the WCS diets. Processing of WCS may include heat treatment, extrusion, cracking, expanding, expelling, pelleting, and chemical treatment. Particularly grinding whole cottonseed had positive effects in ruminal digestibility of organic matter (OM) and total tract digestion of crude protein (CP; Palmquist, 1995; Pires *et al.*, 1997) due to weakening of the WCS coat. Although numerous studies have evaluated the feeding value of whole Upland cottonseed (WCS) in cattle (e.g., DePeters *et al.*, 1985), much less research data is available describing the feeding value of Pima cottonseed (e.g., Prieto *et al.*, 2003). A potential problem associated with feeding of whole Pima cottonseed (WPC) is the appearance of undigested whole seed in feces. Therefore, as others feeding seeds, WPC is generally processed by either cracking or grinding before being fed to dairy cattle (Prieto *et al.*, 2003).

Since recent years exogenous fibrolytic enzymes are receiving increased interest from research groups in several countries. Currently more knowledge is available about the appropriate conditions for the enzymes to express their positive benefits on digestion of feeds. Although the mechanisms by which fibrolytic enzymes improve fiber digestion in the rumen have not been clearly elucidated, they may be related to fiber content (Pinos-Rodriguez *et al.*, 2008) and structural polysaccharide composition (Jalilvand *et al.*, 2008), substrate (Ranilla *et al.*, 2008;

Giraldo *et al.*, 2008), enzyme combinations (Eun and Beauchemin, 2007a), and conditions of medium where the enzyme and substrate is exposed (Colombatto *et al.*, 2007).

Our hypothesis is that exogenous fibrolytic enzymes and cracking whole cottonseed could act synergistically to improve ruminal fermentation and digestion of diets in steers. Little research *in vivo* is available regarding the effects of feeding fibrolytic enzymes and processed feedstuffs (e.g., cracked) on ruminal fermentation and digestion. Thus, our objective was to evaluate the effects of feeding fibrolytic enzymes and whole or cracked cottonseed on ruminal fermentation, duodenal flow and digestion in steers

Material and methods

This experiment was conducted under the supervision and approval of the Academic Committee of the Agriculture Science, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, México, according to the regulations established by the Animal Protection Law enacted by the State of Baja California of México.

Four Holstein steers (167 ± 5 kg body weight) fitted with ruminal and duodenal cannulas were used in this study. Treatments consisted of a basal diet growing-finishing (Table 1) containing (DM basis): 1) whole Pima cottonseed (WPC); 2) WPC + enzyme; 3) cracked Pima cottonseed (CPC); and 4) CPC + enzyme. Diets with WPC or CPC were 70% wheat flaked grain based (Table 1). Chromium sesquioxide (0.3 % DMI) was included in the diets as a digesta marker. Whole Pima cottonseed was cracked by being passed through a roller mill, resulting in an average particle size of about 3.0 mm. Enzyme (15 g/d per head; Fibrozyme, Alltech Inc., Nicholasville, KY, USA) was mixed with the total mixed ration immediately prior to feeding. The enzyme was extensively characterized at pH 6.5 and 39 °C by Ranilla *et al.*, (2008), , that 1

g of enzyme preparation liberated per minute 583 μmol of xylose from oat spelt xylan and 163 μmol of glucose from carboxymethylcellulose.

Dry matter intake was restricted to 2.6% BW (DM basis) and fed in equal portions at 8:00 and 20:00 h daily. Steers were housed individually and allowed free access to water. The four 14-d experimental periods consisted of a 10 d- diet adjustment period followed by a 4 d- collection period. During the collection period, following the protocol based on Zinn *et al.* (1980), duodenal and fecal samples were taken from all steers twice daily as follows: d1, 10:30, 16:30; d2, 9:00, 15:00; d3, 7:30, 13:30; and d4, 6:00, 12:00 h. Individual samples consisted of approximately 700 mL of duodenal chyme and 200 g (wet basis) of fecal material. Samples from each steer and within each collection period were composited for analysis. During the final day of each collection period, ruminal samples were obtained from each steer at 4 h after feeding via the ruminal cannula. Ruminal fluid pH was measured on fresh samples, then rumen samples were strained through four layers of cheesecloth.

Two milliliters of freshly prepared 25 % (wt/vol) *m*-phosphoric acid were added to 8 mL of strained ruminal fluid. Samples were then centrifuged (17,000 $\times g$ for 10 min) and supernatant fluid stored at -20°C for volatile fatty acid (VFA) (gas chromatography using 10% SP-1200/1% H_3PO_4 on 80/100 Chromsorb W AW packing in a 183 cm $\times$ 22 cm i.d. glass column with column, inlet and detector temperatures maintained at 120, 195 and 200 $^{\circ}\text{C}$, respectively, and with N_2 carrier gas flow rate at 20 ml/min).

Samples were subjected to all or part of the following analysis: DM (oven drying at 105°C until no further weight loss); ash, ammonia N, Kjeldahl N (AOAC, 1997); NDF (Goering and Van Soest, 1970; adjusted for insoluble ash); chromic oxide (Hill and Anderson, 1958); purines (Zinn and Owens, 1986), and starch (Zinn, 1990). Microbial OM (MOM) and microbial N (MN)

leaving the abomasums were calculated using purines as a microbial marker (Zinn and Owens, 1986). Duodenal flow and fecal excretion of DM were calculated using chromic oxide as digesta marker. Organic matter fermented in the rumen was estimated equal to organic matter (OM) intake minus difference between the amount of total OM reaching the duodenum and microbial OM (MOM) reaching the duodenum. Feed N escape to the small intestine was considered equal to total N leaving the abomasum minus ammonia N and microbial N (MN), and thus includes any endogenous contributions. Apparent digestibility in the forestomach, small intestine, and hindgut was subsequently calculated based on intake and flow of nutrients.

The experimental design was a Latin square with a 2 x 2 factorial arrangement of treatments (whole cottonseed: unprocessed and cracked; and enzyme (0 and 15 g/d/steer); experimental periods lasted 14 d: 10 for adaptation and 4 for collection. Data was statistically analyzed by the 'MIXED' procedure of SAS (1999). The final model included steer (random), period (random), and treatments (fixed). Whether an interaction of cottonseed with enzyme was with a $P < 0.05$, the LSMEANS procedure was used to compare means. Significant statistical effect was declared when probability was below 0.05.

Results

Ingredients and chemical composition of the two diets with whole cottonseed (WPC and CPC) are in Table 1. As expected, no substantial differences were found between WPC and CPC diets. Daily DM intake and ruminal pH values were not affected by WCS and enzymes (Table 2). Steers fed CPC diet had higher molar proportion of ruminal acetate, and acetate:propionate ratio, but lower molar proportion of propionate and butyrate than those fed WPC. Significant interactions of WCS with enzyme on total VFA concentration, and molar proportion of acetate

and acetate:propionate ratio were detected. When enzymes were added to WPC diets had 1.6% lower total VFA concentrations in rumen, but enzyme addition did not change total VFA concentration in steers fed CPC. Accordingly, enzyme addition to WPC increase 9.4% acetate concentration, but added to CPC depleted it 5.1%. Ruminal molar proportion of acetate of steers fed WPC were increased with enzymes, but contrarily, in steers fed CPC, enzymes reduced this variable. Enzymes did not affect ruminal acetate:propionate ratio in steers fed WPC and CPC diets. In despite of the interactions, factor enzyme did not influence intake and ruminal pH and VFA production.

Daily intake of OM, N, and NDF were not affected by WCS and enzymes. Duodenal flows of OM, N, and NDF were 13.4, 14.2 and 14.6% higher with CPC than WPC, respectively. Cracking WCS depleted 7.9% OM forestomasch digestion, but did not influence N or NDF digestion in that compartment. Intestinal digestion of OM, and N were 11.9 and 17.6% higher with CPC than WPC, respectively. Cracking or enzyme addition did not influence whole tract digestion of OM, N, or NDF.

Interaction WCS x ENZ was only observed on OM duodenal flow. With the enzyme addition it was elevated 5.9% in WPC diets, but decreased 0.9% in CPC treatments. Further ENZ addition only increased OM , N, non-ammonia N duodenal flow and N intestinal digestion.

Discussion

Ingredient composition of the diets was identical, except for the different process of WCS. Diets were offered at a restricted level (2.6 g/kg of total body weight) to minimize feed selection and refusals, and therefore differences between groups in diet intake were not expected. Previously, Sullivan *et al.* (1993a) reported no DM intake differences in dairy cows fed diets with Pima

WPC and CPC. The possible idea that a high density of WPC (Sullivan *et al.*, 1993a) supports the hypothesis of Coppock *et al.* (1987) that many of the linted seeds float longer in the dorsal region of the rumen, resulting in greater rumination. Unfortunately in our study, particle size and density of WPC and CPC were not measured, but that hypothesis can be related to some results found in our study. As compared with CPC, WPC had higher forestomach digestion of OM and total VFA concentration which suggested a higher ruminal digestion for WPC, in consequence lower intestinal digestion of OM and N,. Zinn (1995) reported a contrary effect when ground WCS

In coincidence with Prieto *et al.* (2003) although the nutrients in CPC may be more readily available to microbial enzymes in the rumen, the finer particle size may result in more accelerated passage of nutrients from the rumen. Because of this, in the present study OM, N, and NDF flow to duodenum were increased, although the level of CPC feeding in the current study was perhaps not high enough to affect ruminal digestion of NDF. In order to prevent Pima WCS from being voided in the feces, Pima WCS is generally processed prior to feeding (Sullivan *et al.*, 1993a,b; Prieto *et al.*, 2003). However, CPC in this way will have a smaller particle size, likely causing a faster passage rate from the rumen *versus* WPC. Thus, substitution of WPC by CPC is consistent with our observed increase in the amount of intestinal digestion and duodenal flows of OM, decrease in the microbial N (g/kg of OM truly fermented) and ruminal N efficiency (non-ammonia N flow to the small intestine/N intake) occurred of since the lower ruminal retention time would decrease efficiency of ruminal degradation (McCaughey *et al.*, 2005). Another possible explanation for the less rumina digestion and greater microbial efficiency intakes by steers fed the CPC diet compared with those fed the WPC is that some of the fat from the WPC diet was protected within the seed coat, limiting its biohydrogenation via

ruminal microbes (Baldwin and Allison, 1983). It may then be reasonable to assume that the CPC diets resulted in more free unsaturated fat within the rumen. Unsaturated fatty acids can inhibit ruminal microbes, particularly the cellulolytic organisms, resulting in decreased fiber digestion (Pantoja *et al.*, 1994). If the fiber portion of the diet was less digestible, it could have been retained within the rumen for a longer period of time, slowing ruminal passage rate. The ruminal dispersion characteristics of cottonseed hulls from CPC might have compounded the effects of fat within the rumen. Cottonseed hulls have been reported to mix with ruminal contents rather than forming a fibrous mat within the rumen (Moore *et al.*, 1990); this may have limited rumination and thereby particle size reduction of the cottonseed hulls (Cranston *et al.* 2006). The greater flow of microbial N to the small intestine has been associated with the increased ruminal OM digestion (Zinn *et al.*, 2008), which was not confirmed with our results.

As found, numerical increments of ruminal VFA concentration for cows fed diets containing enzymes were confirmed by Yang *et al.* (1999). They also found that enzymes increased numerically molar proportion of propionate, which was not confirmed in our study. It was not clear why enzymes increased the molar proportion of acetate with WPC, whereas with CPC were reduced, without modifications of fiber digestion. Duodenal flow of OM with WPC, duodenal flow and digestion of N, non ammonia N and ruminal N efficiency with WPC and CPC were increased with enzymes. In effect, Beauchemin *et al.* (1999) found that the proportion of OM from solid-attached microorganisms in the total microbial OM was numerically higher for cows fed supplemental enzyme than for cows not fed the enzyme. We speculate that the exogenous enzymes help release N captured in the cell wall allowing faster microbial access to degradable N, making N more available for microbial growth. In addition, the increase of N efficiency from enzymes may be due to the increment of modifications of rumen bacteria that utilize

hemicellulose or secondary products of cellulose digestion ruminal bacteria (Nsereko *et al.*, 2002; Giraldo *et al.*, 2008). Thus, it is not uncommon to observe changes in VFA proportions as a direct effect of the added enzyme preparation, implying that adding exogenous fibrolytic enzymes could affect microbial growth and/or shift the metabolic pathways by which specific microbes utilize substrates (Eun and Beauchemin, 2007b).

The lack of effects of fibrolytic enzymes on NDF maybe related with the application method of the enzymatic product. In effect, Krueger *et al.* (2008) found that fibrolytic enzymes were most effective at improving digestion of NDF when applied at cutting, as compared to applied at feeding, which could be a result of greater moisture availability for enzyme dispersal and activity when the enzyme was applied at cutting, as well as the longer enzyme-substrate interaction time for this treatment. In our experiment, the enzyme was mixed with the total mixed ration immediately prior to feeding, without a pre-incubation enzyme-substrate. Although pre-incubation is not necessary true, because previous studies (Pinos-Rodriguez *et al.*, 2002, 2008; Giraldo *et al.*, 2008) found the same enzymatic product increased ruminal digestibility and affected ruminal fermentation without a pre-incubation process. Sutton *et al.* (2003) provided evidence that fibrolytic enzymes added to the diet or infused directly into the rumen can manipulate the processes of rumen digestion in lactating dairy cows fed temperate forages. This may be due to the application of enzymes to the feed, which enhances the binding of the enzyme with the substrate, resulting in an increase of the resistance of the enzymes to proteolysis and prolonging their residence time within the rumen. Proteolytic enzymes produced by other ruminal microorganisms quickly inactivate enzymes that are freely released into the ruminal fluid.

The enzymes were added to the TMR just before feeding in this study and might not have had sufficient time to enable the enzyme and feed to form a stable enzyme-feed complex. Once ingested, the enzymes might have been easily released in ruminal fluid and quickly washed out of the rumen remaining active in the small intestine (Hristov *et al.*, 1998). This fact raises the possibility that exogenous enzymes may also alter digestion and nutrient absorption in the small intestine (Yang *et al.*, 1999). In effect, enzymes increased intestinal N digestion (Table 3). It follows, therefore, that postruminal digestions are suggested by enzymes, which has been confirmed by Beauchemin *et al.* (1999) and Sutton *et al.* (2003). These workers argued that this effect reflected the rapid separation of the enzyme added to a total mixed ration in the rumen, and its passage to the intestines where it remained active. These results could be related with the greater duodenal OM flow induced by enzymes. In effect, tendencies for increased rate of particle passage out of the rumen with enzyme-treated feeds have also been reported by Beauchemin *et al.* (1999) and Yang *et al.* (1999). It was argued by Beauchemin *et al.* (1999) that the enhanced rumen particle outflow rate was an explanation for the trends for a shift in the site of fiber digestion from the rumen to the hindgut in the presence of enzymes (Sutton *et al.*, 2003). It seems reasonable to suggest that the effect for enzymes to reduce particle retention time in the rumen may, by reducing the time available for fibrolysis to occur, at least partly explain no differences in digestion of OM and NDF digestion.

Conclusions

The results of the present study demonstrated that cracking Pima cottonseed increased duodenal flow of nutrients without affecting total tract digestion as compared with whole cottonseed.

Supplementing a fibrolytic enzyme immediately prior to feeding did not affect NDF digestion, but increased the rumen N efficiency without a pre-feeding feed-enzyme interaction.

REFERENCES

- AOAC, 1997. Official Methods of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Arieli, A., 1998. Whole cottonseed in dairy cattle feeding: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 72:97-110.
- Baldwin, R.L., Allison, M.J., 1983. Rumen metabolism. *J. Anim. Sci.* 57(Suppl. 2):461-477.
- Beauchemin, K.A., Yang, W.Z., Rode, L.M., 1999. Effects of grain source and enzyme additive on site and extent of nutrient digestion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:378-390.
- Colombatto, D., Mould, F.L., Bhat, M.K., Owen, E., 2007. Influence of exogenous fibrolytic enzyme level and incubation pH on the *in vitro* ruminal fermentation of alfalfa stems, *Anim. Feed Sci. Technol.* 137:150-162.
- Coppock, C.E., Lanham, J.K., Horner, J.L., 1987. A review of the nutritive value and utilization of whole cottonseed, cottonseed meal and associated by-products by dairy cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 18:89-129.
- Cranston, J.J., Rivera, J.D., Galyean, M.L., Brashears, M.M., Brooks, J.C., Markham, C.E., McBeth, L.J., Krehbiel, C.R., 2006. Effects of feeding whole cottonseed and cottonseed products on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 84:2186-2199
- DePeters, E.J., Taylor, S.J., Franke, A.A., Aguirre, A., 1985. Effects of feeding whole cottonseed on composition of milk. *J. Dairy Sci.* 68:897-902.

- Eun, J.-S., Beauchemin, K.A., 2007a. Enhancing *in vitro* degradation of alfalfa hay and corn silage using feed enzymes. J. Dairy Sci. 90:2839-2851.
- Eun, J.-S., Beauchemin, K.A., 2007b. Relationship between enzymatic activities and *in vitro* degradation of alfalfa hay and corn silage. Anim. Feed Sci. Technol. 132:298-315.
- Giraldo, L.A., Tejido, M.L., Ranilla, M.J., Ramos, S., Carro, M.D., 2008. Influence of direct-fed fibrolytic enzymes on diet digestibility and ruminal activity in sheep fed a grass hay-based diet. J. Anim. Sci. 86:1617-1623.
- Hill, F.N., Anderson, D.L., 1958. Comparison of metabolizable energy and productive energy determinations with growing chicks. J. Nutr. 64:587-603.
- Hristov, A.N., McAllister, T.A., Cheng, K.J., 1998. Stability of exogenous polysaccharide-degrading enzyme in the rumen. Anim. Feed Sci. Technol. 76:161-168.
- Jalilvand G., Odongo N.E., López S., Naserian A., Valizadeh R., Eftekhari Shahrodi F., Kebreab E., France, J., 2008. Effects of different levels of an enzyme mixture on *in vitro* gas production parameters of contrasting forages. Anim. Feed Sci. Technol. 146:289-301.
- Krueger N.A., Adesogan A.T., Staples C.R., Krueger W.K., Kim S.C., Littell R.C., Sollenberger L.E., 2008. Effect of method of applying fibrolytic enzymes or ammonia to Bermudagrass hay on feed intake, digestion, and growth of beef steers. J. Anim. Sci. 86:882-889.
- McCaughey, K.M., DePeters, E.J., Robinson, P.H., Santos, J.E.P., Pareas, J.W., Taylor, S.J., 2005. Impact of feeding whole Upland cottonseed, with or without cracked Pima cottonseed with increasing addition of iron sulfate, on productivity and plasma gossypol of lactating dairy cattle. Anim. Feed Sci. Technol. 122:241-256.
- Mertens, D.R., 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. J. Assoc. Off. Assoc. Chem. Int. 85, 1217-1240.
- Moore, J.A., Poore, M.H., Swingle, R.S., 1990. Influence of roughage source on kinetics of digestion and passage, and on calculated extents of ruminal digestion in beef steers fed 65% concentrate diets. J. Anim. Sci. 68:3412-3420.
- Nsereko, V.L., Beauchemin, K.A., Morgavi, D.P., Rode, L.M., Furtado, A.F., McAllister, T.A., Iwaasa, A.D., Yang, W.Z., Wang, Y., 2002. Effect of a fibrolytic enzyme preparation from *Trichoderma longibrachiatum* on the rumen microbial population of dairy cows. Can. J. Microbiol. 48:14-20.

- Palmquist, D.L., 1995. Digestibility of cotton lint fiber and whole oilseeds by ruminal microorganisms. *Anim. Feed Sci. Technol.* 56:231-242.
- Pantoja, J., Firkins, J.L., Eastridge, M.L., Hull, B.L., 1994. Effects of fat saturation and source of fiber on site of nutrient digestion and milk production by lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:2341-2356.
- Pires, A.V, Eastridge, M.L., Firkins, J.L., Lin, Y.C., 1997. Effects of heat treatment and physical processing of cottonseed on nutrient digestibility and production performance by lactating cows. *J. Dairy Sci.* 80:1685-1693.
- Pinos-Rodríguez J.M., González S.S., Mendoza GD, Bárcena J.R., Cobos M.A., Hernández A., Ortega M.E., 2002. Effect of exogenous fibrolytic enzyme on ruminal fermentation and digestibility of alfalfa and rye-grass hay fed to lambs. *J. Anim. Sci.* 80:3016-3020.
- Pinos-Rodríguez J.M., Moreno R., González S.S., Robinson P.H., Mendoza G., Álvarez G.A., 2008. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal fermentation and digestibility of total mixed rations fed to lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 142:210-219.
- Prieto, J.G., DePeters, E.J., Robinson, P.H., Santos, J.E.P., Pareas, J.W., Taylor, S.J., 2003. Increasing dietary levels of cracked Pima cottonseed increase plasma gossypol but do not influence productive performance of lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 86:254-267.
- Ranilla M.J., Tejido M.L., Giraldo L.A., Tricárico J.M., Carro M.D., 2008. Effects of an exogenous fibrolytic enzyme preparation on *in vitro* ruminal fermentation of three forages and their isolated cell walls. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145:109-121.
- SAS, 1999. SAS User's Guide: Statistics, version 8. Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Sullivan, J.L., Huber, J.T., Harper, J.M., 1993a. Performance of dairy cows fed short staple, Pima, and cracked Pima cottonseed and feed characteristics. *J. Dairy Sci.* 76:3555-3561.

- Sullivan, J.L., Huber, J.T., Price, R.L., Harper, J.M., 1993b. Comparison of digestibility, nutritive value, and storage characteristics of different forms of cottonseed in diets fed to lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 71:2837-2842.
- Sutton, J.D., Phipps, R.H., Beever, D.E., Humphries, D.J., Hartnell, G.F., Vicini, J.L., Hard, D.L., 2003. Effect of method of application of a fibrolytic enzyme product on digestive processes and milk production in Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 86:546-556.
- Yang, W.Z., Beauchemin, K.A., Rode, L.M., 1999. Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:391-403.
- Zinn, R.A., Alvarez, E.G., Montano, M., Salinas-Chavira, J., 2008. Influence of dry-rolling and tempering agent addition during the steam-flaking of sorghum grain on its feeding value for feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 86:916-922.
- Zinn, R.A., Owens, F.N., 1986. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. *Can. J. Anim. Sci.* 66:157-166.
- Zhang, W.-J, Xu, Z.-R., Pan, X.-L., Yan, X.-H., Y.-b., Wang., 2007. Advances in gossypol toxicity and processing effects of whole cottonseed in dairy cows feeding. *Liv. Sci.* 111:1-9

Table 1. Ingredients and chemical composition of experimental diets (as dry matter)¹

	Whole cottonseed	
	Unprocessed	Cracked
Ingredients		
Alfalfa hay	92.1	92.1
Grass hay	93.3	93.3
Wheat grain, flaked	610.0	610.0
Cottonseed w/lint, whole	99.5	
Cottonseed w/lint, cracked		99.5
Molasses cane, liquid	86.2	86.2
Calcium carbonate	11.9	11.9
Mineral premix ²	4.0	4.0
Chromium oxide (Cr ₃ O) ³	3.0	3.0
Chemical composition ³		
Dry matter	882.1 ± 32.7	902.0 ± 33.9
Organic matter, %	926.0 ± 36.1	919.8 ± 35.3
Neutral detergent fiber, %	261.9 ± 29.1	258.7 ± 27.6
Nitrogen, %	17.6 ± 1.2	17.3 ± 1.0

¹ Values expressed as g/kg of DM, except for DM, which is expressed as g/kg of the total.² DM base: NaCl, 929.2 g/kg; 35.7 g/kg FeSO₄; ZnO, 12.4 g/kg; CuSO₄, 6.8 g/kg; MnSO₄, 10.7 g/kg; KI, 5.2 g/kg³ Blended with the diet as a digesta markerTable 2. Effect of whole cottonseed and fibrolytic enzymes on intake and ruminal pH and volatile fatty acids.¹

	WPC		CPC		SEM	Significance ²		
	-ENZ	+ENZ	-ENZ	+ENZ		WCS	ENZ	WCS x ENZ
Dry matter intake (kg/d)	9.2	9.5	9.5	9.5	0.23	NS	NS	NS
Ruminal pH	6.06	6.20	6.26	6.08	0.180	NS	NS	NS
Total VFA (mmol/L)	73.0 ^a	71.8 ^b	69.2 ^c	69.4 ^c	2.60	NS	NS	*
Acetate (mol/100 mol)	61.6 ^d	67.4 ^c	76.2 ^a	72.3 ^b	4.12	**	NS	*
Propionate (mol/100 mol)	21.2	18.1	14.1	15.5	3.80	***	NS	NS
Butyrate (mol/100 mol)	17.2	14.5	9.7	11.2	3.41	***	NS	NS
Acetate:propionate ratio	2.9 ^c	3.7 ^{bc}	5.4 ^a	4.7 ^{ab}	1.02	**	NS	*

¹ WPC, unprocessed whole cottonseed; CPC, cracked whole cottonseed; -ENZ, without enzyme; +ENZ, with enzyme; WCS, whole cottonseed factor; ENZ, enzyme factor; WCS x ENZ = whole cottonseed x enzyme interaction.² NS = no significance; * = P<0.05; ** = P<0.01; *** = P<0.001.^{a-d} Means in the same row with different letters differ (P<0.05).

Table 3. Effect of process of whole cottonseed and fibrolytic enzymes on intake, intestinal flow, and digestion of nutrients¹

	WPC		CPC		SEM	Significance ²		
	-ENZ	+ENZ	-ENZ	+ENZ		WCS	ENZ	WCS x ENZ
Organic matter								
Intake (kg/d)	8.639	8.854	8.828	8.830	0.215	NS	NS	NS
Duodenal flow (kg/d)	4.508 ^c	4.774 ^b	5.288 ^a	5.240 ^a	0.245	**	*	*
Digestion (kg/kg intake)								
Forestomach	0.614	0.608	0.562	0.563	0.036	***	NS	NS
Intestinal	0.269	0.275	0.307	0.302	0.084	*	NS	NS
Whole tract	0.748	0.735	0.709	0.710	0.029	NS	NS	NS
Microbial N (g) ³	0.022	0.024	0.029	0.028	0.002	**	NS	NS
Protein								
Intake (kg/d)	0.165	0.169	0.161	0.160	0.004	NS	NS	NS
Duodenal flow (kg/d)	0.185	0.195	0.213	0.221	0.007	*	*	NS
Ammonia N (kg/d)	0.011	0.012	0.012	0.013	0.003	NS	NS	NS
Non-ammonia N (kg/d)	0.174	0.183	0.200	0.208	0.050	***	*	NS
Microbial N (kg/d)	0.116	0.131	0.105	0.101	0.040	NS	NS	NS
Feed N (kg/d)	0.058	0.052	0.060	0.071	0.011	NS	NS	NS
Digestion (kg/kg intake)								
Forestomach	0.647	0.691	0.625	0.561	0.065	NS	NS	NS
Intestinal	0.083	0.087	0.098	0.102	0.028	***	*	NS
Whole tract	0.710	0.713	0.654	0.646	0.022	NS	NS	NS
Ruminal N efficiency ⁴	1.060	1.080	1.250	1.290	0.070	***	*	NS
Neutral detergent fiber								
Intake (kg/d)	1.992	2.041	2.297	2.300	0.470	NS	NS	NS
Duodenal flow (kg/d)	1.558	1.712	1.895	1.852	0.106	**	NS	NS
Digestion (kg/kg intake)								
Forestomach	0.215	0.198	0.177	0.199	0.048	NS	NS	NS
Intestinal	0.172	0.176	0.193	0.178	0.084	NS	NS	NS
Whole tract	0.387	0.374	0.370	0.377	0.103	NS	NS	NS

¹ WPC, unprocessed whole cottonseed; CPC, cracked whole cottonseed; -ENZ, without enzyme; +ENZ, with enzyme; WCS, whole cottonseed factor; ENZ, enzyme factor; WCS x ENZ = whole cottonseed x enzyme interaction.

² NS = no significance; * = P < 0.05; ** = P < 0.01; *** = P < 0.001.

³ Microbial N, g/kg of OM truly fermented.

⁴ Non-ammonia N flow to the small intestine/N intake.

^{a-c} Means in the same row with different letters differ (P<0.05).