

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL



POR:

JOSE MANUEL MADERA JAIME

T E S I S

**DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE DIETAS MIXTAS Y SU
VIABILIDAD EN LA ALIMENTACIÓN DE OVINOS**

**Presentada como requisito parcial para obtener el título
de:**

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Junio 2026

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE DIETAS MIXTAS Y SU VIABILIDAD EN LA
ALIMENTACIÓN DE OVINOS

POR:

JOSE MANUEL MADERA JAIME

TESIS

Que somete a la consideración del h. jurado examinador como requisito para
obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

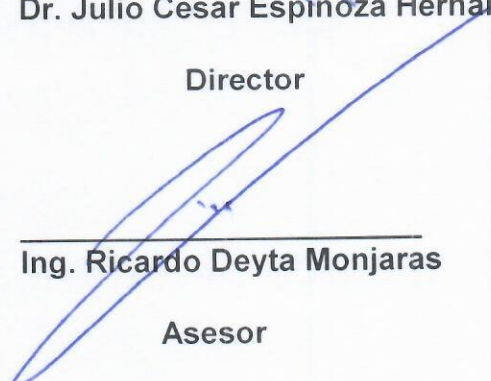
Aprobada por:


Dr. Julio Cesar Espinoza Hernández

Director


Dra. Azucena Vargas Valero

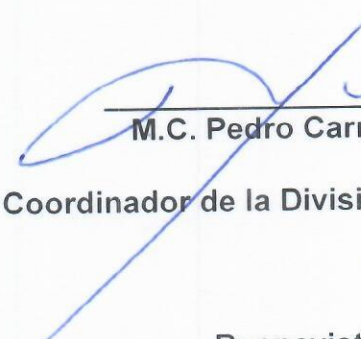
Director Externo


Ing. Ricardo Deyta Monjaras

Asesor


Dr. Francisco Alonso Rodríguez Huerta

Asesor


M.C. Pedro Carrillo López
Coordinador de la División de Ciencia Animal



Buenavista, Saltillo, Coahuila México, Junio 2026.

DERECHO DE AUTOR Y NO PLAGIO

Todo material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor de los Estados Unidos Mexicanos, y pertenece al autor principal quien es responsable directo y jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en el plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos: Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); por comprar, robar, pedir prestado los datos o las tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citas textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamiento de un autor sin citar; utilizar material digital como imágenes videos, ilustraciones, gráficas, mapas, o datos sin citar al autor original y/o fuente. Así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor. Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo no ha sido previamente presentado en ninguna otra institución educativa organización, medio público o privado.

ATENTAMENTE

Alma Terra Mater



José Manuel Madera Jaime

Pasante

Buenavista, Saltillo, Coahuila México

Junio 2026.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por ser el pilar fundamental en mi vida y en mi formación profesional. Gracias por su amor incondicional, por los sacrificios hechos, por cada consejo y por enseñarme el valor del esfuerzo, la disciplina y la perseverancia.

A Dios por darme la vida, la salud y fortaleza para culminar esta etapa, por iluminar mi camino en los momentos de duda, por darme sabiduría en cada decisión y por ponerme en mi vida a las personas correctas que me ayudaron a crecer.

A mis hermanos por su cariño, su apoyo incondicional y por ser mi compañía en cada etapa de este camino. Gracias por todos sus consejos y por creer en mí cuando más lo necesite.

A mi asesor Dr. Julio Cesar Espinoza por su invaluable guía, paciencia y compromiso durante el desarrollo de este trabajo. Gracias por compartir su conocimiento, por cada corrección que me hizo crecer y por el tiempo dedicado a orientarme con profesionalismo y entrega.

Al Dr. Francisco Alonso Rodríguez Huerta por su valioso apoyo, por sus acertadas observaciones que enriquecieron este trabajo. Gracias por compartir su conocimiento y por la disposición mostrada en cada ocasión.

A la M.C. Mayra Alejandra Sosa Flores por su invaluable apoyo técnico, paciencia y enseñanzas durante la fase experimental de esta tesis.

A mis amigos por su amistad incondicional, por las palabras de aliento en los momentos difíciles y por celebrar conmigo cada pequeño avance. Gracias por recordarme que la vida es mejor cuando se comparte, su apoyo fue pilar importante en este camino.

DEDICATORIA

A mis padres:

José Madera Ortiz

Leticia Jaime Reyes

Por ser el ejemplo de trabajo, amor y sacrificio que guía mi vida. Por enseñarme que rendirse no es opción y que los sueños se alcanzan con esfuerzo y dedicación. A ustedes que nunca soltaron mi mano dedico con orgullo este logro. A ustedes, que son mi origen y mi destino dedico con profundo amor este logro.

A mis hermanos:

José Refugio Madera Jaime

Leticia Madera Jaime

Jaqueline Madera Jaime

Suri Sarahi Madera Jaime

Por ser mi equipo de vida, mi risa en los días grises y mi fuerza en cada caída. Por enseñarme que no hay meta imposible cuando se trabaja con el corazón. Por cada sacrificio silencioso y por cada palabra que me levanto. A ustedes con cariño dedico esta meta alcanzada.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA.....	ii
RESUMEN.....	v
ABSTRAC	vi
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. JUSTIFICACIÓN	3
3. OBJETIVOS	4
4. HIPÓTESIS	4
5. REVISIÓN DE LITERATURA	5
5.1. Importancia de la alimentación en rumiantes	5
5.2. Dietas.....	8
5.2.1. Composición de dietas	8
5.2.2. Proporción de ácidos grasos volátiles	12
5.3. Digestibilidad de dietas	14
5.4. Digestibilidad <i>in vitro</i>	17
6. MATERIALES Y MÉTODOS	20
6.1. Descripción del área de estudio.....	20
6.2. Materiales.....	20
6.3. Métodos	20
6.3.1. Determinación de materia seca.....	20
6.3.2. Determinación de ceniza:	22
6.3.3. Preparación de bolsas	24
6.3.4. Preparación de muestras	26
6.3.5. Preparación de solución	28
6.3.6. Preparación de incubadora	29
6.3.7. Obtención de líquido ruminal.....	30
6.3.8. Preparación de bolsas dentro de la solución y líquido ruminal	31
6.3.9. Temperatura y movimiento de la incubadora	32
6.3.10. Extracción de bolsas	33
6.3.11. Lavado y secado de bolsas.....	34
6.3.12. Pesado de bolsas post incubadora	36
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
8. CONCLUSIONES	42

9. BIBLIOGRAFÍA	43
------------------------------	-----------

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de diferentes niveles de concentrado sobre la digestibilidad *in vitro* general utilizando un periodo extendido de incubación anaerobia de 72 horas. Las pruebas de laboratorio se realizaron por triplicado empleando tres dietas mixtas con relaciones forraje: concentrado de 30:70 (T1), 40:60 (T2) y 50:50 (T3), utilizando líquido ruminal como inóculo microbiano. Los resultados obtenidos demuestran que la digestibilidad general no mostró variaciones estadísticamente significativas ($P>0.05$) entre los tratamientos evaluados. Las dietas T1 y T2 alcanzaron una coincidencia exacta de 87.96%, mientras que la dieta T3 registró un 86.56%, compartiendo todo el mismo grupo homogéneo de Tukey. Estos elevados porcentajes de digestión (superiores al 86%) confirman la excelente calidad nutricional de los ingredientes y demuestran que la microbiota ruminal posee una alta capacidad de adaptación para degradar sustratos de forma uniforme en cinéticas largas, borrando las ventajas de la tasa de pasaje iniciales que tienen los granos en las primeras 12 o 24 horas. Desde la perspectiva del análisis costo-beneficio, se concluye que los cambios en la cantidad de grano no alteran la capacidad máxima de aprovechamiento del alimento a largo plazo, por lo que la dieta con una relación 50:50 resulta ser la mejor opción para la alimentación animal. Esta ración reduce significativamente los costos de producción al disminuir el gasto en concentrados comerciales, ofreciendo el mismo valor nutricional por un costo mucho menor.

Palabras clave: Digestibilidad, *In vitro*, relación forraje: concentrado, microbiota ruminal.

ABSTRAC

The objective of this study was to evaluate the effect of different concentrate levels on general *in vitro* digestibility using an extended anaerobic incubation period of 72 hours. Laboratory tests were performed in triplicate using three mixed diets with forage:concentrate ratios of 50:50 (T1), 40:60 (T2), and 30:70 (T3), using rumen fluid as a microbial inoculum. The results obtained demonstrate that general digestibility showed no statistically significant variations ($P > 0.05$) among the evaluated treatments. Diets T1 and T2 reached an exact match of 87.96%, while diet T3 recorded 86.56%, all sharing the same Tukey homogeneous group. These high digestion percentages (above 86%) confirm the excellent nutritional quality of the ingredients and demonstrate that the rumen microbiota has a high capacity to adapt and degrade substrates uniformly in long kinetics, erasing the initial speed advantages that grains have in the first 12 or 24 hours. From a cost-benefit analysis perspective, it is concluded that changes in the amount of grain do not alter the maximum utilization capacity of the feed in the long term; therefore, the diet with a 50:50 ratio turns out to be the best option for animal feeding. This ration significantly reduces production costs by decreasing spending on commercial concentrates, offering the same nutritional value at a much lower cost.

Keywords: *In vitro* digestibility, forage: concentrate ratio, 72 hours, rumen microbiota

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.- Mitigación del cambio climático y eficiencia en la nutrición de rumiantes	8
Cuadro 2.- Dinámica ruminal según la base de la dieta	11
Cuadro 3.- Perfil bioquímico y energético del rumen.....	14
Cuadro 4.- Comparativo de la microbiota ruminal según el nivel de grano en la dieta.....	17
Cuadro 5.- Factores Metodológicos de Variabilidad en la Digestibilidad <i>In Vitro</i> ...	19
Cuadro 6.- Resultados de cenizas y materia orgánica de las muestras analizadas	37
Cuadro 7.- Porcentaje de digestibilidad de las muestras analizadas	38
Cuadro 8.- Resultados obtenidos del análisis de varianza.....	38
Cuadro 9.- Resultados de desviación estándar de las muestras analizadas	38
Cuadro 10.- Resultados de la digestibilidad <i>in vitro</i>	39

1. INTRODUCCIÓN

La producción de rumiantes se considera uno de los principales componentes socioeconómicos y alimentarios más importantes a nivel mundial. Los sistemas de producción ganadera desempeñan un papel fundamental en el desarrollo económico de muchas regiones, ya que proporcionan una fuente importante de ingresos para los productores y contribuyen al bienestar de sus familias. Además, son esenciales para la seguridad alimentaria, debido a que suministran alimentos de origen animal ricos en nutrientes necesarios para una alimentación adecuada. No obstante, la actividad ganadera enfrenta actualmente diversos desafíos que ponen en riesgo su sostenibilidad, entre los que destacan la disminución de las superficies destinadas al pastoreo, la creciente escasez de agua y los efectos derivados del cambio climático. Estas condiciones pueden afectar la estabilidad de los sistemas productivos y comprometer la capacidad del sector para satisfacer la demanda de alimentos en el futuro.

Ante este panorama, la nutrición animal se posiciona como el factor determinante para optimizar la eficiencia de los sistemas productivos. El rendimiento de los rumiantes está estrictamente ligado al consumo y la calidad del forraje. En este contexto, la suplementación estratégica especialmente mediante la inclusión de fuentes energéticas como el almidón de los granos surge como una herramienta clave para corregir deficiencias nutricionales y mejorar la productividad. Sin embargo, el uso excesivo de concentrados exige un conocimiento profundo de la cinética de degradación de los ingredientes y de la fisiología digestiva del animal, con el fin de maximizar la síntesis de proteína microbiana y prevenir disturbios metabólicos que pongan en riesgo la rentabilidad y el bienestar animal.

Para formular estas estrategias de manera precisa, es indispensable conocer con exactitud el valor nutritivo y el grado de aprovechamiento de los alimentos, aspecto donde las técnicas de digestibilidad *in vitro* adquieren un rol protagónico. Al simular de forma controlada en el laboratorio los procesos fermentativos y enzimáticos que ocurren dentro del tracto digestivo del animal. Esta herramienta no solo optimiza el tiempo y reduce los costos económicos y éticos asociados a los ensayos *in vivo*,

sino que se convierte en un pilar fundamental para caracterizar la velocidad de degradación de los nutrientes, evaluar la viabilidad de recursos alternativos y diseñar dietas equilibradas que maximicen la síntesis de proteína microbiana, previniendo al mismo tiempo disturbios metabólicos que pongan en riesgo la rentabilidad del sistema.

2. JUSTIFICACIÓN

La viabilidad y sostenibilidad de los sistemas de producción de rumiantes se encuentran comprometidas debido a factores críticos como el cambio climático, la pérdida de áreas de pastoreo y la volatilidad en los precios de los insumos alimenticios convencionales. Dado que la alimentación representa el mayor costo operativo en la producción de rumiantes, es necesario diseñar estrategias nutricionales que maximicen la eficiencia del uso de los recursos disponibles, tales como los granos ricos en almidón y los subproductos agroindustriales alternativos.

El éxito de la suplementación energética no depende únicamente de la cantidad de alimento ofrecido, sino de la sincronía y la tasa de degradación de los nutrientes a nivel ruminal. El uso inadecuado incrementa el riesgo de disturbios metabólicos severos como la acidosis ruminal, afectando el bienestar del animal y la rentabilidad del mismo.

Esta investigación se justifica al emplear técnicas de digestibilidad *in vitro*, las cuales ofrecen una alternativa científica rápida, económica y éticamente responsable en comparación con los ensayos tradicionales *in vivo*. Al simular el ambiente ruminal bajo condiciones controladas de laboratorio, este estudio genera información cuantitativa confiable sobre el valor biológico real de los alimentos. Los resultados obtenidos permitirán a los productores y nutricionistas predecir el comportamiento productivo animal, optimizar el uso de productos locales y mitigar riesgos metabólicos, promoviendo una mejor producción.

3. OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto de tres niveles de concentrado en dietas mixtas sobre la digestibilidad *in vitro* para determinar su viabilidad nutricional

Objetivos Específicos

Determinar el porcentaje de digestibilidad *in vitro* de la materia seca en dietas mixtas con relaciones forraje: concentrado.

Determinar el porcentaje de Materia Seca en dietas mixtas con relaciones forraje: concentrado.

Determinar el porcentaje Materia Orgánica en dietas mixtas con relaciones forraje: concentrado.

4. HIPÓTESIS

Los diferentes niveles de concentrado en las dietas mixtas (30:70, 40:60 y 50:50) no generan variaciones significativas en el porcentaje de digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

5. REVISIÓN DE LITERATURA

5.1. Importancia de la alimentación en rumiantes

La producción de rumiantes es un sector fundamental para los agricultores de los países en desarrollo, ya que proporciona alimentos de alto valor nutricional y representa una importante fuente de ingresos y seguridad alimentaria, según Van Soest (1994). La carne y la leche producidas por los rumiantes aportan nutrientes esenciales, como proteínas de alta calidad, aminoácidos esenciales, calcio y vitamina D, los cuales contribuyen significativamente a una dieta equilibrada en los seres humanos (Scollan *et al.*, 2014).

Sin embargo, este sector enfrenta diversos desafíos a nivel mundial. Entre los principales problemas se encuentran la limitada disponibilidad de tierras cultivables, la reducción continua de los pastizales y de las áreas destinadas a la producción de cultivos para alimentación animal, así como la escasez de agua (Mekonnen y Hoekstra, 2012). Además, el acelerado cambio climático afecta de manera directa la productividad y sostenibilidad de los sistemas de producción de rumiantes, comprometiendo tanto la disponibilidad de recursos como la eficiencia productiva (Halmemies-Beauchet-Filleau *et al.*, 2018).

La productividad de los rumiantes se encuentra estrechamente condicionada por el consumo de alimento, el cual depende en gran medida tanto de la disponibilidad como de la calidad nutricional del forraje ofrecido, así como de la capacidad fisiológica y metabólica del animal para cosechar, ingerirlo y aprovecharlo de manera eficiente (Grovm, 1993). En este contexto, la alimentación representa uno de los pilares fundamentales dentro de los sistemas de producción animal, ya que influye directamente sobre variables productivas como la ganancia de peso, la producción de leche, la eficiencia alimenticia y el desempeño reproductivo (Herd y Arthur, 2009). Por ello, cualquier limitación en la oferta o el valor nutritivo del recurso forrajero puede traducirse en disminuciones significativas del rendimiento animal y de la rentabilidad del sistema productivo (Thornton y Herrero, 2010).

Bajo estas condiciones, la suplementación nutricional surge como una estrategia clave dentro del manejo alimenticio de los rumiantes. Esta puede definirse como el

suministro adicional de nutrientes destinados a compensar, total o parcialmente, las deficiencias presentes en la dieta basal compuesta principalmente por forrajes (Viglizzo, 1981). Los objetivos de la suplementación son diversos y abarcan desde corregir carencias en cantidad o calidad del forraje disponible (Bowman y Sanson, 1996), hasta cubrir los elevados requerimientos nutricionales de animales de alta producción (Bargo *et al.*, 2003; Moore *et al.*, 1999). Asimismo, la suplementación permite optimizar la eficiencia de utilización de los nutrientes, incrementar la capacidad de carga animal y favorecer un mejor aprovechamiento de las pasturas dentro del sistema productivo (Reis y *et al.*, 2009). Particularmente en sistemas lecheros Bargo *et al.* (2003) destacan que el principal propósito de la suplementación consiste en incrementar el consumo total de materia seca (MS) y de energía por encima de los niveles que pueden alcanzarse únicamente bajo condiciones de pastoreo.

En este sentido, la incorporación de granos en la dieta de los rumiantes ha tenido como finalidad principal aportar fuentes de energía rápidamente disponibles para la microbiota ruminal, especialmente cuando los animales consumen pasturas con elevados contenidos de proteína y alta degradabilidad ruminal, como ocurre en alfalfas, verdeos de invierno y forrajes frescos de alta calidad (Nocek y Russell, 1988). En el caso específico de los cereales, la principal fuente energética está representada por el almidón contenido en el grano, cuya degradación ruminal proporciona energía esencial para favorecer la síntesis de proteína microbiana y mejorar la eficiencia fermentativa del rumen (Huntington *et al.*, 2006).

Sin embargo, la selección del tipo de grano a utilizar constituye un aspecto de gran relevancia, debido a que resulta indispensable lograr una adecuada sincronización entre la disponibilidad de energía y proteína a nivel ruminal (Nocek y Tamminga, 1991). Diversas investigaciones en nutrición de rumiantes han demostrado que el almidón presente en las distintas materias primas posee diferencias significativas en cuanto a su velocidad e intensidad de degradación ruminal (Sauvant y Van Milgen, 1995). Estas variaciones influyen directamente sobre los procesos fermentativos del rumen, el aprovechamiento de los nutrientes y, en consecuencia, sobre la respuesta productiva de los animales. Por ello, comprender las características de degradabilidad de cada fuente de almidón resulta fundamental

para formular estrategias de alimentación más eficientes y acordes a los requerimientos nutricionales de los sistemas modernos de producción animal (Poncet *et al.*, 1995)

La producción en los animales se puede llegar a mejorar mediante aditivos o estrategias alimenticias. Se sabe que el crecimiento de un animal está limitado principalmente por su genética, factores fisiológicos y factores nutricionales (Romero-Huelva *et al.*, 2017). Desde el punto de vista nutricional, la energía es un elemento fundamental en los rumiantes, ya que este participa en procesos esenciales como la generación de calor, el crecimiento, la actividad y la producción (Evan *et al.*, 2020). Por ello, suele ser uno de los principales aspectos a considerar al momento de seleccionar un ingrediente alimenticio. Además, el incremento y la variación constante en los precios de los ingredientes han impulsado la búsqueda de fuentes alternativas de alimentación (Moghaddam *et al.*, 2019). En este contexto, los subproductos agroindustriales y los recursos agrícolas descartados para el consumo humano representan una opción con gran potencial nutricional para la alimentación animal (Hernández *et al.*, 2018).

Cuadro 1.- Mitigación del cambio climático y eficiencia en la nutrición de rumiantes

Parámetro de Sostenibilidad	Sistemas tradicionales (Monocultivo / pastoreo extensivo)	Estrategias de precisión y resiliencia climática
Base de la dieta	Forrajes de baja calidad o granos comerciales.	Integración de subproductos agroindustriales
Uso de suelo y agua	Grandes extensiones de tierra y alta huella hídrica.	Menor presión sobre la tierra cultivable.
Producción de metano entérico (CH ₄)	Energía consumida se pierde en gas.	Disminución de emisiones mediante el uso de taninos, aceites esenciales o ionóforos.
Respuesta al estrés calórico	Disminución del consumo voluntario, disminución de la rumia.	Uso de dietas de alta densidad energética
Microbioma ruminal objetivo	Alta abundancia de arqueas y bacterias celulolíticas	Equilibrio con levaduras vivas que optimizan el pH.
Seguridad alimentaria e ingresos	Sujeta a sequías; alta tasa de mortalidad o descarte animal en épocas críticas.	Producción de ensilajes y subproductos estables.

5.2. Dietas

5.2.1. Composición de dietas

El almidón es una de las principales fuentes de energía que se utilizan en la alimentación de los rumiantes para una mayor producción. Por ello, un buen uso de este mismo es de gran ayuda para mejorar la productividad. Estos granos son utilizados puesto que su estructura y composición son los factores que determinan su digestibilidad y el valor alimenticio para los animales (Rooney y Pflugfelder, 1986).

Algunos de los aspectos más importantes que se deben tener en cuenta cuando se está alimentando a un animal con dietas con gran porcentaje de granos, encontramos principalmente el consumo, la masticación, la rumia y la secreción de saliva (Mertens, 1997).

En dietas altas en grano, altamente fermentables existe un mayor riesgo de que se pueda llegar a presentar algún tipo de acidosis ruminal, la cual estará en función del consumo de almidón fermentable en rumen (Hart y Doyle, 1985). Los aspectos como la digestión del grano, el tipo de población microbiana, los cambios ambientales que se puedan presentar y llegar a alterar el consumo, son factores involucrados en la acidosis (Dixon y Stockdale, 1999). Mientras que el forraje tiene un gran papel dentro de la secreción de saliva puesto que así es como se genera la rumia y con ello una amortiguación de la fermentación causada por los ácidos liberados por los microorganismos del rumen (Tajima *et al.*, 1999).

Degradación ruminal rápida

- Trigo
- Cebada
- Maíz con alto contenido de humedad
- Maíz hojuelado al vapor
- Maíz seco rolado
- Grano de sorgo reconstituido
- Maíz entero
- Sorgo seco rolado
- Sorgo no procesado

Degradación ruminal lenta

Los componentes de una dieta para los rumiantes, modifican significativamente las poblaciones existentes dentro del rumen y determinan la cantidad de las poblaciones microbianas y sus interacciones metabólicas de ese ecosistema (Vlaeminck *et al.*, 2006).

Se sabe que cuando los rumiantes se alimentan con solamente forraje, el fenómeno de adaptación a los nutrimentos en el rumen favorece el establecimiento de

metanogénicas (Archae) y por su interacción, con microorganismos productores de hidrógeno (bacterias, hongos y protozoarios) en ambientes anaerobios (Bernalier *et al.*, 1991).

Por otro lado, a los rumiantes alimentados con dietas ricas en concentrado generan grandes cambios dentro del rumen, que favorecen la interacción de microorganismos productores de hidrógeno y las bacterias acetogénicas (Brown *et al.*, 2006).

La alimentación de los rumiantes con dietas de una determinada proporción de forraje/concentrado genera grandes cambios dentro de la microbiota del rumen, los cuales llevan a cabo una mejor utilización de nutrientes (Grant, 1997).

El estudio del fenómeno de adaptación de rumiantes a dietas con diferente proporción forraje/concentrado y su efecto sobre las poblaciones microbianas del rumen, crea unas oportunidades para maximizar la utilización de los nutrientes de la dieta y también, contar con estrategias para la cría y aprovechamiento de rumiantes con bajas emisiones de metano a la atmósfera (Newbold y Rode, 2006).

Stock (1988) enfatiza el efecto del uso de forraje sobre la tasa de pasaje puede llegar a ser beneficioso en raciones altas en concentrados donde los granos tienen una fermentación más rápida, ya con esto se puede reducir la producción total de ácidos y los riesgos de acidosis bajan significativamente; por otro lado, los cambios en la tasa de pasaje con los granos de una fermentación más lenta, puede llegar a reducir un poco la digestibilidad ruminal. Una tasa de pasaje rápida puede llegar a reducir el tiempo para la acción de las enzimas ruminales en el alimento consumido lo que puede llegar a ocasionar una menor digestibilidad (Huhtanen y Kukkonen, 1995).

La adición de forrajes en las dietas es de gran ayuda ya que mejora significativamente el consumo por lo cual aumentan las ganancias (Mertens, 1997). Sin embargo, la energía que se obtiene de la fibra es más costosa que la obtenida a partir de los granos por ello, el mantener un balance de forraje y concentrado en las dietas suministradas a los rumiantes es un factor muy importante para mantener

un rendimiento óptimo, así como una buena salud de los animales y por lo tanto un buen costo de producción (Tozer, 2012).

Por otro lado, el forraje utilizado en las raciones altas en concentrados es uno de los principales amortiguadores de una acidosis gracias al estímulo de la rumia por lo que el nivel de inclusión, así como la forma en la que es ofrecida deben ser cuidadosamente consideradas al formular las dietas (Krause y Oetzel, 2006).

Aunado a lo anterior, se ha demostrado que el comportamiento productivo de los rumiantes es mejor, es decir una mayor tasa de ganancia, así como una mejor eficiencia al incluir niveles de forraje en las dietas que son ofrecidas a los animales (Huffman *et al.*, 1992).

Cuadro 2.- Dinámica ruminal según la base de la dieta

Parámetro científico	Dietas altas en forraje (Fibra)	Dietas altas en concentrado (Almidón)
Sustrato principal	Celulosa, hemicelulosa y lignina.	Almidón, azúcares solubles y glucógeno.
Población microbiana predominante	Bacterias celulolíticas y fibrolíticas	Bacterias amilolíticas
Perfil de ácidos grasos volátiles (AGV)	Alta proporción de Acetato	Alta proporción de Propionato y lactato
pH ruminal promedio	6.2 a 7.0.	5.0 a 5.8.
tasa de fermentación	Lenta y progresiva.	Rápida y exponencial.
Masticación y rumia	Alta estimulación mecánica	Baja estimulación mecánica
Secreción de saliva y capacidad buffer	Máxima producción de saliva	Producción de saliva reducida

5.2.2. Proporción de ácidos grasos volátiles

Un suministro alto de forraje en las dietas utilizadas produce un pH ruminal elevado, este nos genera una gran actividad de rumia por una alta producción de saliva, promoviendo el crecimiento de bacterias celulolíticas y una fermentación acética. Mientras que, por otro lado, un alto contenido de concentrado dentro de la dieta genera un pH bajo, lo que promueve una actividad amilolítica con alta producción de ácido propiónico y láctico (Kaufmann, 1976).

Un abastecimiento de concentrados con porcentajes que no sean mayor a 40 % de la dieta, no se ve afectado el ambiente dentro del rumen, aunque proveerá de energía que las bacterias necesitan para su funcionamiento adecuado, así como para un mejor aprovechamiento del alimento que les es suministrado (Rearte *et al.*, 1989).

Por otro lado, la administración de granos en niveles elevados sólo resulta adecuada cuando los animales han sido sometidos a un proceso de adaptación gradual y bien planificado. Asimismo, las reducciones del pH ruminal que se produzcan pueden ser mitigadas mediante el uso de sustancias amortiguadoras o buffers (Rearte y Elizalde, 1994).

La energía que es suministrada de los alimentos concentrados genera una alta producción de ácido graso propiónico, la cual es mejor aprovechada dentro del metabolismo del rumen, por el contrario, la energía que se obtiene de alimentos fibrosos produce una alta cantidad de ácido acético el cual es menor su aprovechamiento dentro del rumen (Van Soest, 1994). A pesar de que los rumiantes pueden aprovechar gran parte de la celulosa gracias a la fermentación que se lleva a cabo dentro del rumen, el proceso lleva a una considerable pérdida de energía (Kaufmann, 1976).

Los ácidos grasos volátiles (AGV) además de aportar energía para los rumiantes, integran importantes productos para el metabolismo de los rumiantes. Esto puede conseguirse con una menor cantidad de fibra y una incorporación de concentrados a la dieta suministrada (Smith y Crouse, 1984). Cuando se suministra más del 30

% de granos a la ración puede llegar a generar una disminución de digestibilidad de la fibra (Rearte y Santini, 1989), lo que ocasiona una mayor producción de ácidos grasos insaturados (AGI) (Fernández Mayer, 1998).

Una dieta que es alta en forrajes produce un pH ruminal elevado por estimular la rumia, por lo tanto, una alta producción de saliva, lo que genera que se produzca una alta cantidad de bacterias celulolíticas y por ello se genere una fermentación acética, es decir, una alta producción de ácido acético (Russell, 1998). Por otro lado, una ración alta en concentrado provoca la producción de un pH bajo, por lo que aportará una actividad amilolítica con una alta producción de ácido propiónico y ácido láctico (Kaufmann, 1976).

La presentación física del alimento suministrado en las dietas llega a producir cambios en el pH del rumen lo que a su vez genera cambios en la cantidad de los productos generados por la digestibilidad de los alimentos suministrados (Llonch *et al.*, 2020). El tamaño de la partícula del alimento es otro factor muy importante ya que afecta significativamente la actividad de la rumia, por lo tanto, se ve afectada la producción de saliva, esto se ve reflejado en la modificación de la población de los microorganismos del rumen y se verá modificada la producción de AGV (Beauchet-Filleau *et al.*, 2023).

Cuadro 3.- Perfil bioquímico y energético del rumen

Parámetro de evaluación	Dominancia de forraje (> 60% de la dieta)	Umbral óptimo de sincronismo ($\leq$ 40% de concentrado)	Dominancia de concentrado (70% a 90% de grano)	Sustento científico y efecto biológico
Estabilidad del pH	Rango: 6.2 a 6.8	Rango: 6.0 a 6.3).	Rango: < 5.5	El pH regula de forma selectiva la tasa
Mecanismo de estabilización	Estimulación de la rumia	Aporte de buffers salivales	Producción de ácido supera la capacidad	La saliva aporta neutraliza la acidez
AGV predominante	Acetato (Ácido Acético)	Alta producción de acetato	Ácido Propiónico y acumulación de Lactato.	El acetato es el precursor base para la síntesis de grasa láctea
Comportamiento en ensayos <i>in vitro</i>	Curva de fermentación lenta	Alta reproducibilidad.	Saturación acelerada del buffer. Caída del pH	Dietas con altos granos requieren duplicar la capacidad del tampón

5.3. Digestibilidad de dietas

En el país se utilizan diferentes proporciones de grano en la alimentación del ganado, el cual puede ir desde un 20 % a un 90 % de la dieta total (Cantor *et al.*, 2023). El uso de altos niveles de grano en las dietas puede llegar a modificar el metabolismo del rumen, el cual puede llegar a exponerlo a una acidosis, por lo tanto, es importante considerar los manejos que se deben tomar en cuenta para evitar estos trastornos metabólicos al animal (Bevans *et al.*, 2005)

La cantidad de concentrado en la dieta afecta directamente a la digestibilidad ruminal, la cual puede llegar a afectar a los microorganismos del rumen los cuales son los encargados de la digestibilidad (Mould, 1988).

Stock (1988) indica que el forraje puede ser beneficioso para la tasa de pasaje en las dietas altas en concentrado cuyos granos son de una fermentación rápida, esto debido a que puede llegar a reducirse la producción de ácidos y por ende la acidosis ruminal. Aunque estos cambios en la tasa de pasaje pueden llegar a afectar a los granos de fermentación lenta puesto que disminuye su digestibilidad, por ello, una tasa de pasaje rápida puede reducir el tiempo para que los microorganismos y las enzimas del rumen degraden al alimento (Offner *et al.*, 2003).

Los aspectos relacionados con el forraje como la tasa de pasaje, el tamaño de la partícula pueden llegar a afectar la digestibilidad en dietas altas en concentrados (Gill *et al.*, 1981). Los resultados de Thompson y Lamming (1972), señalan que la digestión del almidón fue mayor cuando el tamaño de partícula del forraje fue de un mayor tamaño. El conjunto de estos factores como lo son el tamaño de partícula, su forma y la cantidad de forraje tienen que ser considerados al momento de realizar las raciones para así tener una mejor digestibilidad del almidón.

Los resultados de la alimentación están condicionados principalmente por el porcentaje que contienen de concentrado las dietas, así como de la manera en la que se es ofrecida a los animales (Beauchemin y Yang, 2005). El abastecimiento de concentrado por niveles inferiores al 40 % de la ración total, no se ve afectado el metabolismo dentro del rumen, si bien, suministra la energía suficiente para que las bacterias la utilicen para aprovechamiento del amoníaco ruminal (Rearte *et al.*, 1989).

Por otro lado, con cantidades mayores de alimentación generarán un mayor reemplazo de la pastura consumida, afectando el ambiente dentro del rumen, con efectos negativos muy notorios como lo son la digestibilidad del forraje, así como el consumo de el mismo (Bargo *et al.*, 2003). La adición de granos en altos porcentajes en las dietas solamente es adecuada cuando existe una previa adaptación de los animales (Rearte y Elizalde, 1994).

Stock (1988) enfatiza que el efecto del forraje sobre la tasa de pasaje puede ser beneficioso en raciones altas en concentrados cuyos granos tienen una fermentación rápida, ya que se puede reducir la producción total de ácidos y los

riesgos de acidosis. Sin embargo, los cambios en la tasa de pasaje podrían ser detrimentales en aquellos granos de fermentación lenta, reduciendo con ello la digestibilidad ruminal. Una tasa de pasaje rápida puede reducir el tiempo para la acción de las enzimas ruminales y posiblemente ocurre lo mismo en el intestino delgado (Lopes *et al.*, 2015).

La degradación del almidón dentro del rumen está determinada por las propiedades propias del almidón, asimismo de los procedimientos a los que se haya sometido el grano (Ørskov, 1986).

Generalmente los granos de trigo y cebada suelen tener una rápida degradación de almidón, es decir, el almidón de estos granos se digiere rápidamente, por otro lado, los granos de maíz y sorgo son más lentos (Britton y Stock, 1987).

Por otra parte, Durán *et al.* (2004) y Calderón *et al.* (2011) obtuvieron resultados en los que comprueban que el almidón puede tener una digestibilidad que va desde el 50 % hasta un 80 %.

Cuadro 4.- Comparativo de la microbiota ruminal según el nivel de grano en la dieta

Dimensión de análisis	Dietas altas en forraje (20% a 40% grano)	Dietas altas en concentrado (70% a 90% grano)	Impacto en la digestibilidad / manejo recomendado
Sustrato principal	Carbohidratos estructurales	Carbohidratos no estructurales	Modifica la tasa de pasaje y la cinética de fermentación.
Rango de pH ruminal	6.2 - 6.8	< 5.5	El pH < 5.5 inactiva las enzimas fibrolíticas, induciendo acidosis
Microbiota predominante	<i>Bacteria Celulolíticas</i>	<i>Bacterias Amilolíticas</i>	Sustitución de flora nativa. Caída drástica en la degradación de la fibra
Riesgo metabólico	Nulo	Elevado	Provoca laminitis, ruminitis Requiere uso de buffers NaHCO ₃
Manejo del tampón (Buffer)	Solución tampón estándar	Requiere doble capacidad buffer o monitoreo constante de pH.	Previene la acidosis artificial provocada por la rápida liberación de ácidos en sistemas cerrados.

5.4. Digestibilidad *in vitro*

Las investigaciones de digestibilidad realizadas por Tilley y Terry (1963), sobre *in vitro* se basan en una fermentación anaeróbica utilizando líquido ruminal o enzimas que permiten simular la digestión del alimento, como piensos o forraje. Empleando dicho proceso, se determina con qué facilidad se digiere el alimento durante la digestión.

El procedimiento utilizado en las investigaciones de digestibilidad, las muestras de los alimentos que se desean analizar se someten a un proceso de incubación en contacto con líquido ruminal durante un periodo aproximado de 48 a 72 horas dependiendo si es concentrado o forraje (Goering y Van Soest, 1970).

Durante este tiempo, se reproduce de manera controlada la actividad microbiana que ocurre naturalmente en el sistema digestivo de los rumiantes, lo que permite observar el grado de degradación del material alimenticio bajo condiciones de laboratorio. Este enfoque facilita la estimación de la digestibilidad de los alimentos de forma más precisa y estandarizada (Mabjeesh *et al.*, 2000).

Dicho método simula el proceso de digestión que ocurre de manera natural en el tracto digestivo de los rumiantes, especialmente en el rumen, donde se lleva a cabo una intensa actividad microbiana (Theodorou *et al.*, 1994). Debido a esto, es indispensable el uso de líquido ruminal que contenga microorganismos viables, ya que estos son los responsables de la degradación de los componentes del alimento (Huntington y Burns, 2007). De esta forma, el procedimiento permite reproducir en condiciones controladas de laboratorio las condiciones fisiológicas del animal, facilitando la evaluación del comportamiento digestivo de los alimentos de manera más precisa y representativa (Tilley y Terry, 1963).

La población de microorganismos presentes en el rumen puede verse influenciada por una amplia variedad de factores, tales como la dieta del animal, su estado fisiológico, el manejo alimenticio y las condiciones ambientales, la procedencia del inóculo ruminal se considera uno de los principales factores de variación en la determinación de la digestibilidad *in vitro* (Amanzougarene y Fondevila, 2016).

En este sentido, la composición y actividad microbiana del líquido ruminal no siempre es constante, lo que puede generar diferencias en los resultados obtenidos entre ensayos (Cone *et al.*, 2002). Por ello, la selección y manejo adecuado del inóculo resulta fundamental para asegurar mayor consistencia y confiabilidad en las evaluaciones de digestibilidad realizadas en condiciones de laboratorio (Marten y Barnes, 1980).

Bajo esta perspectiva, la dieta que consumen los animales de los cuales se obtiene el líquido ruminal se ha identificado como uno de los factores más importantes que influyen en la cantidad, diversidad y actividad de los microorganismos presentes en el rumen (Henderson *et al.*, 2015). Esto se debe a que la alimentación del animal determina en gran medida el tipo de sustratos disponibles para la microbiota ruminal, lo cual repercute directamente en su desarrollo y funcionamiento (Amanzougarene y Fondevila, 2016). En consecuencia, estas variaciones en la población microbiana pueden generar cambios significativos en los valores de digestibilidad *in vitro* (DIV) de los alimentos evaluados, afectando la consistencia y comparabilidad de los resultados obtenidos en los ensayos (Weiss, 1994).

Cuadro 5.- Factores Metodológicos de Variabilidad en la Digestibilidad *In Vitro*

Factor crítico	Impacto analítico	Estrategia de mitigación
Dieta del donante	Modifica la carga enzimática y microbiota del líquido ruminal	Mantener animales donantes con dietas basales estables
Tamaño de partícula	Moliendas muy finas < 1mm aumentan artificialmente el área superficial acelerando la cinética de fermentación.	Estandarizar la molienda empleando cribas milimétricas uniformes (típicamente 1.0 mm o 2.0 mm).
Porosidad de la bolsa	Poros > 30 nm inducen la pérdida física de partículas finas de muestra sobreestimando la digestibilidad.	Verificar la integridad estructural y el tamaño de poro controlado de los consumibles de filtración.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Descripción del área de estudio

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Rumiantes, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Esta instalación se localiza geográficamente a 25°22' latitud norte y 101°22' longitud oeste, con una altura de 1742 msnm.

6.2. Materiales

- Crisoles
- Pre incinerador
- Mufla
- Bolsas
- Dieta
- Estufa
- Desecadores
- Pinzas
- Báscula
- Espátula
- Sellador
- Incubadora ANKOM DAISY
- Frascos Vidrio
- Termos
- Bata
- Guantes Látex
- Cubrebocas
- Plumones
- Hojas
- Trapos

6.3. Métodos

El alimento utilizado en el experimento tenía un contenido del 20 % de proteína cruda y 11.48 MJ EM/kg de MS. La dieta estaba compuesta por pasta de soya, maíz y sorgo molido, salvado de trigo, heno de alfalfa, sales minerales y urea.

6.3.1. Determinación de materia seca

Para realizar los análisis correspondientes, fue necesario llevar a cabo un proceso previo de preparación de las muestras obtenidas durante el muestreo. En primer lugar, cada muestra fue sometida a un proceso de molienda mediante un molino (Wiley), con el fin de reducir el tamaño de las partículas (2-3 mm) y facilitar su homogeneización. Este proceso permitió obtener una mezcla representativa de

cada muestra, garantizando una mayor precisión y confiabilidad en los resultados de los análisis posteriores, al minimizar las variaciones derivadas de posibles heterogeneidades en la composición del material. Asimismo, el uso de muestras finamente molidas y en condiciones óptimas facilitó el manejo y la aplicación de los diferentes procedimientos de laboratorio, asegurando que cada análisis se realizará bajo condiciones controladas y contribuyendo a la obtención de resultados más exactos y consistentes.

Para la determinación de la materia seca total de las muestras, se siguió el siguiente procedimiento: Inicialmente, se procedió a la preparación de los crisoles a utilizar. Cada crisol fue identificado individualmente con el propósito de mantener un adecuado control y organización de las muestras, evitando posibles confusiones durante el proceso experimental. Posteriormente, los crisoles fueron colocados en una estufa de secado a 110 °C durante 24 horas, con el objetivo de eliminar cualquier rastro de humedad residual y garantizar que no afectará los pesos registrados en etapas posteriores.

Una vez completado el periodo de secado, los crisoles fueron retirados cuidadosamente de la estufa utilizando una pinza de acero inoxidable, con el fin de evitar contaminación o transferencia de humedad. A continuación, se colocaron en un desecador durante 15 a 25 minutos, permitiendo que alcanzaran la temperatura ambiente y un peso constante. Este paso es fundamental para evitar variaciones en el peso por el calor residual.

Una vez estabilizados, los crisoles fueron retirados del desecador y pesados en una balanza analítica Explorer Ohaus de alta precisión. El peso obtenido se registró como “peso del crisol vacío”, dato indispensable para los cálculos posteriores. Posteriormente, los crisoles fueron devueltos al desecador hasta el momento de adicionar las muestras.

A cada crisol se adicionaron aproximadamente 2 gramos de muestra, asegurando una cantidad suficiente y representativa. El peso resultante se registró como “peso del crisol + muestra húmeda”. Este valor sirvió como base para determinar la pérdida de humedad durante el proceso de secado.

Seguidamente, los crisoles con las muestras fueron colocados nuevamente en la estufa de secado a 110 °C durante 24 horas, con el propósito de eliminar completamente la humedad presente y obtener materia seca.

Finalizado este periodo, los crisoles fueron retirados de la estufa utilizando pinzas de acero inoxidable y colocados en el desecador durante 15 a 25 minutos para alcanzar nuevamente la temperatura ambiente. Una vez estabilizados, se procedió a determinar el peso final en la balanza analítica Explorer Ohaus, registrándose como “peso del crisol + muestra seca”. Este dato fue utilizado posteriormente para realizar los cálculos correspondientes de humedad y materia seca.

Obtenido todos los pesos, se procedió a efectuar los siguientes cálculos:

Masa húmeda = (Peso de crisol + muestra húmeda) – (Peso del crisol)

Masa seca = (peso del crisol + muestra seca) – (Peso del crisol vacío)

Porcentaje de materia seca (%MS) = Masa seca/Masa húmeda x 100

Porcentaje de materia seca total: MST= Peso fresco x (% Materia seca / 100)

6.3.2. Determinación de ceniza:

La determinación de cenizas es uno de los análisis bromatológicos de mayor relevancia en la evaluación de la calidad nutricional de los concentrados. Este procedimiento es fundamental en la industria zootécnica, ya que permite cuantificar el contenido total de minerales en una muestra vegetal mediante la eliminación de la materia orgánica por incineración a altas temperaturas. El residuo obtenido tras la calcinación corresponde a las cenizas, las cuales representan la fracción inorgánica del alimento.

Realizar este análisis es crucial para la nutrición animal, puesto que los minerales cumplen funciones esenciales en el crecimiento, reproducción y metabolismo del ganado. El procedimiento experimental se desarrolló de la siguiente manera:

Dado que se disponía de muestras previamente preparadas para la determinación de materia seca total, se trasladaron los crisoles utilizando un desecador. Antes de

introducir las muestras en la mufla, se realizó una pre-calcinación en un mechero o plato incinerador para evitar que la materia orgánica se inflame y provoque pérdidas por proyección. El fin de la emisión de humo indicó que la muestra estaba lista para ser retirada de esta fuente de calor y colocada nuevamente en el desecador.

Posteriormente, los crisoles se transfirieron a la mufla, donde se acomodaron con la ayuda de una pinza de acero para su calcinación a 550 °C durante 6 horas. Este proceso oxida y elimina por completo la materia orgánica, manteniendo en el crisol únicamente los minerales no combustibles. El indicador principal de una calcinación correcta es el color de la ceniza, el cual debe ser blanco o gris claro; un tono oscuro denota la presencia de carbón residual, lo que exige repetir el procedimiento.

Al finalizar el tiempo establecido, y se dejó enfriar la mufla por aproximadamente 12 horas los crisoles se retiraron cuidadosamente con las pinzas y se colocaron de inmediato en el desecador para enfriar sin absorber humedad del ambiente, lo que alteraría el peso final. Una vez que los crisoles alcanzaron un peso constante, se pesaron en una balanza analítica para registrar la masa del crisol con el residuo mineral. La diferencia entre este valor y el peso del crisol vacío representa la cantidad de ceniza obtenida.

A partir de los datos registrados, se determinó el porcentaje de cenizas en base seca mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = (P3 - P1) / (P2 - P1) \times 100$$

Donde:

P1 = Peso del crisol vacío

P2 = Peso del crisol con muestra

P3 = Peso del crisol con cenizas



6.3.3. Preparación de bolsas

Esta etapa es crucial en la técnica de digestibilidad *in vitro*, ya que la correcta preparación e identificación de las bolsas de polietileno garantiza el control y la organización de las muestras durante el procedimiento. Cada bolsa se identificó con una numeración específica para facilitar su reconocimiento al adicionar el concentrado, evitando confusiones y asegurando la trazabilidad y confiabilidad de los resultados.

Posteriormente, las bolsas se agruparon en conjuntos de diez unidades y se envolvieron en papel filtro (o papel secante) para facilitar su manipulación y

protegerlas de la humedad ambiental al retirarlas de la estufa. Este cuidado es fundamental, ya que cualquier higroscopia en el material alteraría el peso inicial y afectaría la precisión de los cálculos posteriores.

Una vez organizadas, las bolsas se colocaron en una estufa de secado a 60 °C durante 24 horas para eliminar por completo la humedad residual y obtener su peso constante. Tras el periodo de secado, se retiraron con la ayuda de pinzas para evitar el contacto directo y posibles contaminaciones, y se transfirieron de inmediato a un desecador. Allí permanecieron hasta alcanzar el equilibrio térmico con el ambiente y un peso constante, protegidas de la humedad exterior.

Una vez estabilizadas, se determinó su peso utilizando una balanza analítica de alta precisión, registrando este valor como el "peso de la bolsa vacía", un dato analítico indispensable para los cálculos de digestibilidad. Durante todo el proceso se mantuvieron estrictas medidas de bioseguridad e higiene mediante el uso de cubrebocas, guantes de látex y bata de laboratorio, minimizando el riesgo de transferir humedad o residuos dérmicos que pudieran alterar las lecturas experimentales.



6.3.4. Preparación de muestras

Para la realización del experimento, las muestras a trabajar fueron mezclas de forraje y concentrado con una relación 30-70, 40-60 y 50-50, fueron sometidos a un proceso de molienda con el objetivo de reducir el tamaño de partícula de cada muestra. Este procedimiento se llevó a cabo con el fin de obtener una mezcla homogénea y uniforme, condición esencial para garantizar la consistencia de las características físicas y químicas entre las muestras durante el análisis. De esta manera, se eliminaron las variaciones inter muestrales que pudieran influir en los registros de peso y en los cálculos subsiguientes. Adicionalmente, la molienda favoreció una mejor manipulación del material y permitió una evaluación más precisa y confiable de la digestibilidad.

Una vez molidas, organizadas y homogeneizadas las muestras, se procedió a la elaboración de moldes de papel, los cuales facilitaron el pesaje y redujeron significativamente el riesgo de pérdida de material durante el pesaje en la balanza analítica. Este paso adquirió especial relevancia debido a que la cantidad de muestra empleada fue reducida (0,5 g), por lo que cualquier pérdida, aunque mínima, podía comprometer la exactitud y reproducibilidad de los resultados experimentales.

Posteriormente, las bolsas de análisis fueron retiradas de la estufa con pinzas de acero inoxidable, evitando el contacto directo con las manos con el propósito de prevenir cualquier tipo de contaminación o alteración en su peso. Inmediatamente después, se colocaron en un desecador durante aproximadamente 15 minutos, permitiendo que alcanzaran la temperatura ambiente y un peso constante, al tiempo que se elimina cualquier rastro de humedad residual. Este procedimiento reviste gran importancia en los análisis, ya que asegura la exactitud y reproducibilidad de las mediciones.

Una vez transcurrido el tiempo en el desecador, se colocó el molde de papel sobre la balanza analítica y se taró. Con ayuda de una espátula de laboratorio de acero inoxidable, se adiciona cuidadosamente el material molido hasta alcanzar un peso

exacto de 0,5 gramos. Obtenido el peso deseado, se extrajeron las bolsas del desecador y se introdujo en cada una la muestra previamente pesada.

Finalmente, las bolsas fueron selladas mediante una selladora de impulso, con el objetivo de evitar pérdidas de material durante su manipulación y prevenir posibles alteraciones que pudieran generar resultados erróneos o inconsistentes. Las bolsas selladas fueron dispuestas de forma ordenada en un recipiente adecuado, facilitando su identificación, control y manejo en las etapas posteriores del estudio.



6.3.5. Preparación de solución

Reactivos

Buffer Solution (A)	g/liter
KH_2PO_4	10.0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5
NaCl	0.5
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.1
Urea (reagent grade)	0.5

Buffer Solution (B)

NaB_2COB_3	15.0
$\text{NaB}_2\text{S} \cdot 9\text{HB}_2\text{O}$	1.0 (c)

Neutral Detergent Solution (C)

Se agregó 266 ml de solución B a 1330 ml de solución A (proporción 1:4).

Se ajustó la cantidad exacta de A y B con la solución B hasta obtener un pH de 6.8 a 39 °C. No más arriba de 6.8; el ajuste del pH es necesario.

Se agregaron 1600 ml de la mezcla A y B a cada frasco que contiene las bolsas con muestra.

Se colocaron los frascos con muestras y solución buffer dentro de la incubadora DEISY y se activaron los botones de temperatura y agitador (la luz roja indica encendido).



6.3.6. Preparación de incubadora

Para la correcta ejecución del experimento, es indispensable verificar previamente las condiciones en las que se encuentra la incubadora Daisy. En primer lugar, se aseguró que el equipo estuviera completamente limpio y libre de residuos provenientes de experimentos anteriores. El mantenimiento de adecuadas condiciones de higiene dentro de la incubadora es fundamental para prevenir contaminaciones cruzadas que pudieran alterar la actividad microbiana y, consecuentemente, comprometer la validez de los resultados de digestibilidad obtenidos.

De igual manera, se realizó una limpieza exhaustiva de los frascos que serían utilizados durante el proceso de incubación, con el propósito de eliminar cualquier resto de material orgánico o sustancia residual que pudiera interferir con el normal desarrollo del experimento.

Otro aspecto crítico consistió en la revisión del sistema de rotación de la incubadora. Este mecanismo permite mantener un movimiento continuo de los frascos durante todo el periodo de incubación, favoreciendo un contacto uniforme entre las muestras, la solución buffer y el líquido ruminal. Dicha agitación constante simula de manera más fiel las condiciones fisiológicas presentes en el rumen. Por ello, verificar el correcto funcionamiento de este sistema resultó esencial para garantizar la homogeneidad del proceso y la confiabilidad de los resultados.

Una vez verificados todos los aspectos mencionados, la incubadora fue encendida con al menos 24 horas de anticipación al inicio del experimento. Este tiempo previo permitió que el equipo con la mezcla de ambas soluciones (A y B) alcanzaran y estabilizaran la temperatura de incubación requerida (38-40 °C), simulando la temperatura ruminal fisiológica. Adicionalmente, este periodo de precalentamiento permitió comprobar el adecuado funcionamiento de todos los componentes del equipo, tales como el sistema de calentamiento y el mecanismo de rotación, minimizando de esta forma la posibilidad de fallas durante el desarrollo del ensayo.

6.3.7. Obtención de líquido ruminal

Para la recolección del líquido ruminal, se prepararon previamente varios termos con agua caliente, ajustando su temperatura a un rango de 38 a 40 °C, con el fin de simular las condiciones térmicas presentes en el rumen del animal. Este procedimiento tuvo como objetivo acondicionar los recipientes antes de depositar el líquido ruminal, evitando de esta manera un choque térmico que pudiera comprometer la viabilidad de los microorganismos presentes. El mantenimiento de una temperatura adecuada es fundamental, ya que el líquido ruminal contiene una compleja comunidad microbiana compuesta por bacterias, protozoarios, hongos y otros microorganismos responsables de los procesos de fermentación y digestión, los cuales son altamente sensibles a cambios bruscos de temperatura. Por consiguiente, preservar sus condiciones naturales resulta indispensable para garantizar el correcto desarrollo del experimento y la confiabilidad de los resultados.

Para la extracción del líquido ruminal, se realizó una incisión en el rumen recién extraído del animal, trabajando de manera rápida y cuidadosa con el propósito de minimizar alteraciones en las propiedades del contenido ruminal. Posteriormente, se retiró el agua caliente de los termos, manteniendo en todo momento el cuidado necesario para evitar una disminución brusca de la temperatura interna antes de adicionar el líquido recolectado. De esta forma, se conservó un ambiente térmico adecuado que favoreció la preservación de la actividad microbiana y redujo el riesgo de afectar los procesos biológicos a evaluar durante la incubación.

Una vez preparados los recipientes, se procedió a la obtención del contenido ruminal mediante la utilización de material filtrante limpio. El contenido fue exprimido y colado simultáneamente con el fin de separar las partículas sólidas de mayor tamaño y obtener principalmente la fracción líquida. Este procedimiento permitió obtener un líquido ruminal más homogéneo y libre de residuos excesivos, conservando en la mayor medida posible sus propiedades físicas, químicas y microbiológicas.

Al alcanzar la cantidad requerida de líquido ruminal, los termos fueron sellados inmediatamente para minimizar la pérdida de temperatura y reducir el contacto con el medio ambiente externo, disminuyendo de esta manera el riesgo de contaminación. Posteriormente, se trasladaron hacia la incubadora con el mayor cuidado posible, manteniendo las condiciones térmicas y ambientales adecuadas durante todo el trayecto.

La recolección y manipulación del líquido ruminal constituye una de las etapas críticas del experimento, dado que este representa el principal medio biológico responsable de la fermentación y digestión de las muestras en la prueba de digestibilidad *in vitro*. Por ello, cualquier alteración durante su recolección, manipulación o transporte puede generar cambios significativos en la actividad microbiana, afectando directamente la precisión, reproducibilidad y validez científica de los resultados obtenidos.



6.3.8. Preparación de bolsas dentro de la solución y líquido ruminal

Las soluciones tampón (A y B) se precalentaron a 39 °C. Posteriormente, se mezclaron 266 mL de la solución B en 1330 mL de la solución A (relación 1:5) en un contenedor independiente; la proporción exacta entre ambas soluciones se ajustó minuciosamente hasta alcanzar un pH final de 6.8 a la temperatura de incubación. Tras conseguir este valor, no se requirieron ajustes adicionales de pH.

A continuación, se adicionaron 1600 mL de la mezcla tampón A/B a cada frasco de digestión. Estos frascos, que ya contenían las muestras de forraje, se introdujeron en la incubadora Daisy II, activando inmediatamente los sistemas de calefacción y agitación rotatoria. El sistema se dejó estabilizar durante un periodo de 20 a 30 minutos para garantizar el equilibrio térmico de los recipientes.

Finalmente, los frascos de digestión se retiraron individualmente de la incubadora para adicionarles 400 mL de inóculo ruminal. Inmediatamente después de la adición, el espacio de cabeza del frasco se purgó con gas CO₂ durante 30 segundos para desplazar el oxígeno y mantener las condiciones de anaerobiosis estrictas, asegurando firmemente la tapa antes de devolverlo al equipo. Este procedimiento se repitió de manera secuencial con cada uno de los frascos experimentales.



6.3.9. Temperatura y movimiento de la incubadora

El monitoreo constante de la temperatura y la agitación de los frascos dentro de la incubadora es indispensable para garantizar el éxito del análisis. El sistema debe mantenerse a una temperatura constante de 39.5 °C para simular las condiciones térmicas del rumen, asegurando así la viabilidad y actividad metabólica del microbiota ruminal. Asimismo, la rotación continua de los frascos fue crucial, ya que

simula las contracciones y movimientos peristálticos del retículo-rumen, promoviendo el contacto homogéneo entre el forraje, el medio tampón y los microorganismos.

Con el fin de mantener un control de calidad riguroso y minimizar el impacto de posibles fallas técnicas en el equipo, se estableció un protocolo de supervisión periódica cada 3 horas. Esta frecuencia de verificación permitió detectar y corregir oportunamente cualquier desviación en las condiciones de incubación, salvaguardando la integridad del ensayo biológico.



6.3.10. Extracción de bolsas

Transcurridas las 72 horas de incubación, periodo durante el cual la incubadora fue monitoreada continuamente cada 3 horas con el fin de verificar que la temperatura y el sistema de agitación se mantuvieran dentro de los parámetros establecidos, se procedió a la extracción individual de cada frasco. Este monitoreo constante resultó esencial para garantizar que el proceso de digestibilidad *in vitro* se llevara a cabo bajo condiciones estables y lo más cercanas posible al ambiente ruminal, minimizando de esta forma cualquier alteración que pudiera afectar el crecimiento y la actividad de los microorganismos presentes en el líquido ruminal.

Una vez retirados los frascos de la incubadora, se eliminó cuidadosamente el contenido líquido de cada uno, manipulando las bolsas con precaución para evitar daños físicos, pérdidas de material o alteraciones en su contenido. Posteriormente, las bolsas fueron enjuagadas exhaustivamente con agua destilada, con el objetivo de remover los residuos de líquido ruminal, las partículas no degradadas adheridas a su superficie y cualquier otro compuesto que pudiera interferir en las determinaciones analíticas posteriores.



6.3.11. Lavado y secado de bolsas

Una vez finalizado el proceso de enjuague, las bolsas fueron colocadas cuidadosamente sobre bandejas y distribuidas de forma ordenada para facilitar el escurrimiento del exceso de agua. Las bolsas permanecieron en reposo durante 24 horas, con el propósito de eliminar la mayor cantidad posible de humedad superficial antes de proceder con el secado. Este paso resultó esencial para evitar que el exceso de agua interfiriera en el proceso de secado subsiguiente y para mejorar la precisión de los pesos finales registrados.

Transcurrido este periodo, las bolsas fueron introducidas nuevamente en la estufa de secado, organizadas de manera que permitieran una distribución uniforme del

calor y un secado homogéneo de todas las muestras. Las bolsas permanecieron en la estufa durante 24 horas adicionales, con el objetivo de eliminar completamente cualquier residuo de humedad tanto en las bolsas como en el material remanente de las muestras. La eliminación total de la humedad fue un aspecto crítico, ya que cualquier cantidad residual podría modificar el peso final y comprometer la exactitud de los resultados en la determinación de la digestibilidad.

Una vez completado el periodo de secado, las bolsas fueron retiradas cuidadosamente de la estufa con ayuda de pinzas, evitando el contacto directo para prevenir variaciones en el peso por manipulación. Posteriormente, se colocaron en un desecador durante 15 a 20 minutos. Este procedimiento permitió que las bolsas alcanzaran la temperatura ambiente y un peso constante, minimizando la posible absorción de humedad ambiental antes del pesaje.

Finalmente, las bolsas fueron extraídas individualmente del desecador y pesadas en una balanza analítica de alta precisión. Los pesos finales obtenidos fueron registrados y utilizados posteriormente para realizar los cálculos correspondientes a fin de determinar la digestibilidad de las muestras evaluadas.



6.3.12. Pesado de bolsas post incubadora

Una vez finalizado el tiempo de secado en la estufa, las bolsas fueron pesadas en una balanza analítica de alta precisión con el fin de obtener el peso post-digestión. Este peso permitió determinar el grado de digestibilidad alcanzado por los forrajes evaluados. Durante el pesaje se extremaron las precauciones para evitar la contaminación de las bolsas o su exposición prolongada al ambiente, minimizando de esta forma posibles errores en la medición y garantizando una mayor exactitud en los registros.

El peso final de cada bolsa fue debidamente anotado en la bitácora correspondiente. Posteriormente, con estos datos se realizaron los cálculos necesarios para determinar el porcentaje de digestibilidad de los forrajes estudiados.



7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio no mostraron variaciones estadísticamente significativas sobre la materia orgánica y el contenido de cenizas entre los tratamientos evaluados, independientemente del nivel de inclusión de concentrado (Cuadro 6).

Cuadro 6.- Resultados de cenizas y materia orgánica de las muestras analizadas

NOMBRE MUESTRA	% CENIZAS	% M.O
T1	7.197	92.620
T2	8.249	91.533
T3	8.650	91.145

T1: 30-70, T2 40-60, T3 50-50

Estos resultados indican que las variaciones en la proporción de concentrado no modificaron de manera importante la composición mineral global de las raciones ni la proporción de componentes orgánicos potencialmente utilizables por los microorganismos ruminales.

Las cenizas representan la fracción mineral pura del alimento (como el calcio, fósforo, magnesio y potasio). En nutrición animal, este componente es completamente inerte frente a la fermentación microbiana del rumen. Los microorganismos rompen, transforman y consumen los carbohidratos y las proteínas para obtener energía, pero no tienen la capacidad de degradar ni hacer desaparecer los minerales esenciales (Van Soest, 1994).

Esta estabilidad en el contenido de cenizas explica de forma directa por qué la materia orgánica (que es el 100 % del alimento menos el porcentaje de cenizas) tampoco mostró diferencias significativas entre los tratamientos. Como señalan Mertens (1997) y Huhtanen *et al.* (2016), la materia orgánica está compuesta por las fracciones que sí aportan nutrientes utilizables: carbohidratos, proteínas y grasas.

Cuadro 7.- Porcentaje de digestibilidad de las muestras analizadas

TRATAMIENTO	REPETICIÓN	DATO
1	R1	86.800
1	R2	86.351
1	R3	90.729
2	R1	85.725
2	R2	88.901
2	R3	89.253
3	R1	88.956
3	R2	83.134
3	R3	87.592

T1: 30-70, T2 40-60, T3 50-50

Cuadro 8.- Resultados obtenidos del análisis de varianza

R- CUADRADO	COEFF VAR	ROOT MSE	MEDIA
0.094064	2.864	2.506	87.493

Cuadro 9.- Resultados de desviación estándar de las muestras analizadas

TRATAMIENTO	N	MEDIA	STD DEV
T1	3	87.960	±2.408
T2	3	87.959	±1.943
T3	3	86.561	±3.044

T1: 30-70, T2 40-60, T3 50-50

Cuadro 10.- Resultados de la digestibilidad *in vitro*

TRATAMIENTO	N	MEDIA	TUKEY GROUPING
T1	3	87.96	A
T2	3	87.96	A
T3	3	86.561	A

T1: 30-70, T2 40-60, T3 50-50

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que la digestibilidad *in vitro* tras un periodo de incubación anaeróbica de 72 horas no mostró variaciones estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados, independientemente del nivel de inclusión de concentrado (Cuadros 7- 9).

Si hacemos pruebas de pocas horas (como 12 o 24 horas), las dietas con mucho grano siempre se van a digerir más rápido al principio porque el concentrado se deshace casi de inmediato.

Sin embargo, al prolongar la incubación hasta 72 horas, la interpretación biológica de la prueba cambia de manera importante. En lugar de evaluar únicamente la rapidez con que los microorganismos fermentan las fracciones más disponibles, el ensayo comienza a estimar la digestibilidad potencial máxima de la dieta. Durante este periodo extendido, las poblaciones microbianas disponen del tiempo suficiente para colonizar las partículas alimenticias, multiplicarse y degradar progresivamente las fracciones estructurales de digestión más lenta.

Como resultado, las diferencias iniciales asociadas a la velocidad de fermentación tienden a reducirse hasta alcanzar un punto de convergencia donde la mayoría de la materia potencialmente digestible ha sido utilizada.

La coincidencia casi exacta entre los tratamientos T1 y T2 (87.96 %) y la pequeña diferencia que no afectó a T3 (86.56 %) es un hallazgo muy importante. En los laboratorios de nutrición animal, dejar los alimentos durante un tiempo de 72 horas sirve para conocer la digestibilidad potencial máxima de una dieta. Es decir, sirve

para ver el límite que los microorganismos pueden llegar a alcanzar para digerir y aprovechar el alimento.

Este comportamiento al final del experimento coincide con lo que explican Arndt *et al.* (2024), quienes señalan que, en las pruebas de laboratorio largas, la digestión de diferentes alimentos siempre tiende a emparejarse. Esto ocurre porque los microbios terminan comiéndose todo lo que es comestible.

Al llegar a las 72 horas, las diferencias de velocidad entre un alimento rápido (como el concentrado) y uno lento (como el forraje) desaparecen, dejando al final solamente la parte que es indigerible. Al final, como bien explicaba Van Soest (1994) en sus estudios clásicos sobre la fibra, en el tubo de ensayo solo queda la parte que es verdaderamente indigerible.

Esta igualdad demuestra que la microbiota del rumen tiene una gran capacidad para adaptarse. Autores como Mertens (1997) y Detmann *et al.* (2014) explican que los microorganismos del rumen trabajan en equipo. Las bacterias que comen fibra y las que comen grano logran un equilibrio dinámico si el ambiente se mantiene estable.

Mientras el alimento se pueda digerir y las condiciones del medio no sean limitantes, estos microorganismos se adaptan para sacar la mayor cantidad de energía posible de la dieta. Esto explica por qué las dietas que tengan desde un 50 % hasta un 70 % de concentrado sin que el sistema pierda fuerza, lo que confirma que el método tradicional de Tilley y Terry, (1963) sigue siendo excelente para medir el valor real de los alimentos cuando el ambiente del laboratorio se mantiene en equilibrio.

Este equilibrio se logra porque, en el laboratorio, usamos soluciones buffer que controlan la acidez (el pH). Al mantener el ambiente estable y evitar que el pH caiga a niveles críticos, las bacterias encargadas de digerir el forraje pueden trabajar al máximo sin los problemas de competencia o muerte celular que tendrían dentro del animal vivo (Nagaraja y Titgemeyer, 2007). Al final, como también señalan Weimer (2022) y Huhtanen *et al.* (2016), los microbios disponen de todo el tiempo necesario para agotar la parte nutritiva de ambos componentes.

Cuando extendemos la incubación a 72 horas, el análisis deja de medir la velocidad a la que se fermenta el grano y empieza a medir qué tanta fibra indigerible tiene la dieta.

Esto demuestra que añadir más o menos grano cambia la rapidez con la que el animal recibe energía al inicio, pero no cambia la cantidad total de nutrientes que los microorganismos son capaces de destruir si se les da el tiempo suficiente.

Este comportamiento confirma que el método tradicional de Tilley y Terry (1963) sigue siendo una herramienta excelente y muy robusta para medir el valor real de los alimentos cuando el ambiente del laboratorio se mantiene en equilibrio. El ensayo demuestra con claridad que la técnica refleja fielmente el potencial biológico de la dieta completa, anulando los sesgos que las tasas de fermentación rápida introducen en los análisis de corto tiempo.

Desde el punto de vista práctico, estos hallazgos tienen importantes implicaciones para la interpretación de los análisis de digestibilidad. Mientras que las incubaciones cortas son útiles para estudiar la velocidad de fermentación y la disponibilidad inmediata de nutrientes, las incubaciones prolongadas permiten estimar con mayor precisión el potencial real de aprovechamiento de los alimentos.

Por ello, la ausencia de diferencias a las 72 horas no necesariamente implica que las dietas se comporten de manera idéntica dentro del animal, sino que indica que poseen una capacidad similar de degradación cuando se eliminan las restricciones asociadas al tiempo de permanencia ruminal y a las fluctuaciones ambientales.

Asimismo, los resultados sugieren que las variaciones en el nivel de concentrado evaluadas en este estudio modifican principalmente la dinámica temporal de liberación de energía más que la magnitud total de materia degradable. En términos productivos, esto significa que las dietas con mayor inclusión de concentrado podrían suministrar energía de forma más rápida durante las primeras horas posteriores al consumo, favoreciendo determinados procesos metabólicos. Sin embargo, cuando se analiza el potencial máximo de degradación alcanzable por la

microbiota, las diferencias entre tratamientos se reducen considerablemente debido a que todos contienen proporciones similares de material potencialmente digestible.

8. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente experimento el nivel de inclusión de concentrado no tuvo efecto significativo, por lo que se puede concluir que los cambios en la cantidad de grano no alteran la capacidad máxima de aprovechamiento del alimento a largo plazo.

Los elevados porcentajes de digestión obtenidos (superiores al 86 %) confirman la excelente calidad nutricional de las dietas evaluadas y demuestran que el líquido ruminal utilizado contenía una población microbiana sana, densa y altamente activa para trabajar de forma uniforme durante los tres días de la prueba.

Desde el punto de vista del costo-beneficio, la dieta con una relación 50:50 (forraje: concentrado) resulta ser la mejor opción para la alimentación de los animales.

Debido a que las tres dietas mixtas alcanzaron el mismo límite de digestibilidad general a las 72 horas (sin diferencias estadísticas), aumentar el concentrado hasta un 60 % o 70 % no genera ninguna ganancia extra en el aprovechamiento del alimento. Por lo tanto, utilizar la ración 50:50 reduce significativamente los costos de producción al gastar menos dinero en concentrados comerciales, ofreciendo la misma calidad nutricional por un precio mucho más bajo.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Amanzougarene, Z., & Fondevila, M. (2016). Influence of the donor animal diet on the *in vitro* rumen fermentation of different types of substrates. *Animal Feed Science and Technology*, 221, 168-177. doi.org
- Ankom Technology. (2020). *In vitro* true digestibility using the DAISY II Incubator. Operator's Manual, New York, USA.
- Arndt, C., Hristov, A. N., Price, W. J., McClelland, S. C., Pelaez, A. M., Cueva, S. F., Oh, J., Dijkstra, J., Bannink, A., Bayat, A. R., Crompton, L. A., Reynolds, C. K., Kreuzer, M., Schwarm, A., Shingfield, K. J., Hales, K. E., Spielmann, J., Hill, J., Newbold, C. J., ... & Yu, Z. (2024). Full-term dietary mitigation strategies and full-length kinetic models in ruminant digestion assays: A global meta-analysis [Estrategias de mitigación dietética a largo plazo y modelos cinéticos completos].
- Bargo, F., Muller, L. D., Kolver, E. S., & Delahoy, J. E. (2003). Invited review: Production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. *Journal of Dairy Science*, 86(1), 1-42. doi.org
- Beauchemin, K. A., & Yang, W. Z. (2005). Effects of physically effective fiber on chewing activity and rumen fermentation of dairy cows fed diets based on barley silage. *Journal of Dairy Science*, 88(6), 2117-2129. doi.org
- Beauchemin, K. A., & Yang, W. Z. (2005). Effects of physically effective fiber on chewing activity and ruminal pH of dairy cows fed diets based on corn silage [Efectos de la fibra físicamente efectiva sobre la masticación y el pH ruminal].
- Beauchet-Filleau, A., Kroll_TMR, & Sauvant, D. (2023). Effects of forage particle size in dairy cow diets on chewing activity, ruminal fermentation, and milk production: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 106(4), 2415-2432. doi.org
- Bernalier, A., Fonty, G., & Gouet, P. (1991). Cellulose degradation by two rumen anaerobic fungi in monoculture or in coculture with rumen bacteria. *Animal Feed Science and Technology*, 32(1), 131-136.
- Bevans, D. W., Beauchemin, K. A., Schwartzkopf-Genswein, K. S., McKinnon, J. J., & McAllister, T. A. (2005). Effect of grain adaptation strategy on rumen hydrogen ion concentration and behavior of feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 83(6), 1359-1372. doi.org

- Bowman, J. G. P., & Sanson, D. W. (1996). Nutrient supplementation of ruminants. En *Nutrient Requirements of Domestic Animals*. Academic Press.
- Britton, R. A., & Stock, R. A. (1987). Acidosis, rate of starch digestion and its control. In *Proceedings of the Jonathan B. Lantz Memorial Symposium on Corn Utilization* (pp. 73-81). Ohio State University.
- Brown, M. S., Ponce, C. H., & Pulikanti, R. (2006). Adaptation of beef cattle to high-concentrate diets: Performance and ruminal metabolism. *Journal of Animal Science*, 84 Suppl:E25-33. doi: 10.2527/2006.8413_supple25x.
- Calderón-Sánchez, F., Mendoza-Martínez, G. D., Hernández-Garay, A., Muñoz-Orozco, A., Ramírez-Valverde, G., & Plata-Pérez, F. X. (2011). Degradabilidad ruminal de almidón de variedades y mutantes de sorgo con diferente genotipo. *Universidad y Ciencia*, 27(1), 63–71 SciELO.
- Cantor, M. C., Wood, D. T., Miller-Cushon, E. K., & Costa, J. H. C. (2023). Effects of step-up diets with varying concentrate-to-forage ratios on rumen fermentation, chewing behavior, and performance of feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 101, skad142. doi.org
- Cone, J. W., van Gelder, A. H., Bachmann, H., & Hindle, V. A. (2002). Influence of rumen fluid donor diet on in vitro gas production kinetics of several carbohydrates. *Animal Feed Science and Technology*, 96(1-2), 119-131. doi.org
- de Evan, T., Carro, M. D., Haro, A., & González, J. (2020). Effects of agroindustrial by-products as alternative energy feeds on ruminal fermentation, nutrient digestibility, and methane production in ruminants. 10:600. <https://doi.org/10.3390/ani10040600>.
- Detmann, E., Valadares Filho, S. C., Batista, E. D., & Huhtanen, P. (2014). An evaluation of the performance and efficiency of utilization of nutrients in ruminants fed low-quality tropical forages supplemented with protein and energy [Evaluación del desempeño y eficiencia de utilización de nutrientes en rumiantes]. *Animal Feed Science and Technology*, 198, 9–24
- Dixon, R. M., & Stockdale, C. R. (1999). Associative effects between feeds in ruminants Associative Effects between Forages and Grains: Consequences for Feed Utilization. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50, 757-773. <https://doi.org/10.1071/AR98165>

- Durán-Altamirano, J., Castro-Nava, S., Mendoza-Martínez, G. D., Cobos-Peralta, M. A., Ricalde-Velasco, R., & Plata-Pérez, F. X. (2004). Degradabilidad ruminal in vitro de almidón de 21 variedades de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) con diferente genotipo de resistencia a sequía. *Interciencia*, 29(6), 329–333
- Fernández Mayer, A. E. (1998). Fisiología de la producción de carne. Material Didáctico N° 3 (pp. 6–34). Estación Experimental Agropecuaria (EEA) INTA Bordenave.
- Gill, M., Siddons, R. C., Beever, D. E., & Rowe, J. B. (1981). Metabolism of lactic acid isomers in the rumen of sheep fed silage or fresh forage [Metabolismo de los isómeros del ácido láctico en el rumen]. *British Journal of Nutrition*, 46(1), 89–97.
- Goering, H. K., & Van Soest, P. J. (1970). Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications) (Agriculture Handbook No. 379). Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture.
- Grant, R. J. (1997). Interactions among forage and byproduct fiber sources, physicochemical characteristics of fiber, and ruminal function. *Journal of Dairy Science*, 80(7), 1438–1446
- Grovum, W. L. (1993). Ingestion, mastication and passage of digesta in ruminants. En Forbes, J. M., & France, J. (Eds.), *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism* (pp. 133–153). CAB International
- Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Rinne, M., Lamminen, M., Mapato, C., Ampapon, T., Wanapat, M., & Shingfield, K. J. (2018). Alternative protein sources for ruminants in the tropics. *Animal Feed Science and Technology*, 241, 124-142.
- Hart, S. P., & Doyle, P. T. (1985). Adaptation of early-weaned lambs to high-concentrate diets with three grain sources, with or without sodium bicarbonate. *Journal Animal Science*, 61, 975- 984.
- Henderson, G., Cox, F., Ganesh, S., Jonker, A., Young, W., & Janssen, P. H. (2015). Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. *Scientific Reports*, 5(1), 14567. doi.org
- Herd, R. M., & Arthur, P. F. (2009). Physiological basis for a trait with potential to increase the efficiency of beef production. *Animal*, 3(2), 165-178. doi.org

- Hernández-Mendiola, E. C., Mendoza-Martínez, G. D. y Hernández-Sánchez, D. (2018). Contenido de fracciones de carbohidratos y degradabilidad ruminal in vitro de raciones para bovinos adicionadas con rastrojo de maíz. *Revista Bio Ciencias*, 5: e362.
- Huffman, R. P., Stock, R. A., Sindt, M. H., & Shain, D. H. (1992). Effect of fat type and forage level on performance of finishing cattle. *Journal Animal Science*, 70:3889–3898
- Huhtanen, P., & Kukkonen, U. (1995). Comparison of methods, markers and models for estimating digesta passage kinetics in cattle fed silage-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, 52(1-2), 141-158.
- Huhtanen, P., Krizsan, S. J., Nyholm, L., & Rinne, M. (2016). Predicting *in vitro* and *in vivo* fiber digestibility of forages using pool-kinetic models. *Journal of Dairy Science*, 99(11), 8752–8767
- Huntington, G. B., & Burns, J. C. (2007). Technical Note: Comparison of techniques to sample rumen contents of cattle. *Journal of Animal Science*, 85(5), 1256-1262. doi.org
- Huntington, G. B., Harmon, D. L., & Kristensen, N. B. (2006). Effects of a dietary starch source on ruminal fermentation and portal-drained visceral nutrient flux in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 125(3-4), 225-248.
- Kaufmann, W. (1976). Influence of the composition of the ration and the feeding frequency on pH-regulation in the rumen and on feed intake in ruminants [Influencia de la composición de la ración y la frecuencia de alimentación sobre la regulación del pH en el rumen]. *Livestock Production Science*, 3(2), 103–114.
- Krause, K. M., & Oetzel, G. R. (2006). Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 126(3-4), 215-236. doi.org
- Llonch, P., Somarriba, M., & Devant, M. (2020). Effect of straw particle size and concentrate presentation form on rumen heifer health and fermentation. *Animals*, 10(9), 1645. doi.org
- Lopes, F., Cook, D. E., & Combs, D. K. (2015). Validation of an in vitro model to predict total-tract digestibility of starch in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98(3), 1916-1923. doi.org

- Mabjeesh, S. J., Cohen, M., & Arieli, A. (2000). In vitro methods for measuring rumen degradability of feeds and their suitability for evaluating modern ruminant diets. *Journal of Dairy Science*, 83(10), 2281-2294. doi.org
- Marten, G. C., & Barnes, R. F. (1980). Prediction of energy digestibility of forages with in vitro rumen fermentation and fungal enzyme systems [Predicción de la digestibilidad de la energía de los forrajes con fermentación ruminal in vitro y sistemas de enzimas fúngicas]. En W. J. K line (Ed.), *Evaluating the Nutritive Value of Forages* (pp. 61–101). American Society of Agronomy ResearchGate.
- Mekonnen, M. M., & Hoekstra, A. Y. (2012). A global assessment of the water footprint of farm animal products. *Ecosystems*, 15(3), 401-415. doi.org
- Mertens, D. R. (1997). Creating a system for meeting the carbohydrate requirements of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 80(7), 1463-1481. doi.org
- Moghaddam, H., Alipour, D., & Barzegar, M. (2019). Economic fluctuations in feed ingredients and the search for alternative agro-industrial by-products in livestock nutrition. *Animal Feed Science and Technology*
- Moore, J. E., Brant, M. H., Kunkle, W. E., & Hopkins, D. I. (1999). Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility, and animal performance. *Journal of Animal Science*. 77(2):122-135
- Mould, F. L. (1988). Associative effects of feeds. The effect of dietary addition of bicarbonate salts on the voluntary intake and digestibility of diets containing various proportions of hay and barley. *Animal Feed Science and Tecnology*, 10(1): 31-47.
- Nagaraja, T. G., & Titgemeyer, E. C. (2007). Ruminal acidosis in beef cattle: The current microbiological and nutritional Outlook. *Journal of Dairy Science*, 90: E17-E38.
- Newbold, C. J., & Rode, L. M. (2006). Dietary additives to control methanogenesis in the rumen. *International Congress Series*, 1293, 138-147.
- Nocek, J. E., & Russell, J. B. (1988). Protein and carbohydrate as an alternative to synchronizing ruminal degradation. *Journal of Dairy Science*, 71(8), 2070-2107.
- Nocek, J. E., & Tamminga, S. (1991). Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *Journal of Dairy Science*, 74(10): 3598-3629.

- Offner, A., Bach, A., & Sauvant, D. (2003). Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen. *Animal Feed Science and Technology*, 106(1-4), 81-93.
- Ørskov, E. R. (1986). Starch digestion and utilization in ruminants. *Journal of Animal Science*, 63(5), 1624–1633.
- Poncet, C., Rémond, D., Lepetit, M., & Doreau, M. (1995). Manipulation of the site of starch digestion (rumen vs small intestine). En *Proceedings of the 8th International Symposium on Ruminant Physiology*, Pp. 115-132.
- Rearte, D. H., & Elizalde, J. C. (1994). Estrategias de suplementación con granos y uso de amortiguadores en rumiantes. *Actas de la Asociación Argentina de Producción Animal (AAPA)*, 14(1), 45–62.
- Rearte, D. H., & Santini, F. J. (1989). El alimento y los procesos digestivos en el rumen [The feed and digestive processes in the rumen]. *Boletín Técnico Informativo, INTA Balcarce*.
- Reis, R. A., Ruggieri, A. C., Casagrande, D. R., & Páscoa, A. G. (2009). Suplementação de bovinos em pastejo. En *Anais do Simpósio sobre Manejo Estratégico da Pastagem* (pp. 233-274). UFV.
- Romero-Huelva, M., Ramírez-Fenosa, M. A., Planelles-González, R., García-Casado, P., & Molina-Alcaide, E. (2017). Can by-products replace conventional ingredients in concentrate of dairy goat diet. *Journal of Dairy Science*, 100(6): 4500-4512.
- Rooney, L. W., & Pflugfelder, R. L. (1986). Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *Journal of Animal Science*, 63(2), 607-623.
- Russell, J. B. (1998). Strategies that ruminal bacteria use to handle excess carbohydrate and acid. *Journal of Animal Science*, 76(7): 1955-1963.
- Sauvant, D., & Van Milgen, J. (1995). Dynamic aspects of carbohydrate and protein breakdown and the associated microbial matter synthesis. En W. V. Engelhardt, S. Leonhard-Marek, G. Breves, & D. Giesecke (Eds.), *Ruminant physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction* (pp. 71–91).
- Scollan, N. D., Hocquette JF., Nuernberg K., *et al.* (2014). Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relevancy for human health. *Meat Science*, 74(1): 17-33.

- Smith, S. B., & Crouse, J. D. (1984). Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue. *The Journal of Nutrition*, 114(4), 792-800.
- Stock, R. A. (1988). Effect of forage level and grain processing on passage rate and digestion in ruminants. Nebraska Beef Cattle Report. University of Nebraska-Lincoln
- Tajima, K., Aminov, R. I., Nagamine, T., Matsui, H., Nakamura, M., & Benno, Y. (1999). Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with Real-Time PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(6) <https://doi.org/10.1128/AEM.67.6.2766-2774.2001>
- Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, A. B., & France, J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48(3-4), 185-197. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.6.2766-2774.2001>.
- Thompson, F., & Lamming, G. E. (1972). The flow of digesta, dry matter and starch to the duodenum in sheep given rations containing straw of varying particle size. *British Journal of Nutrition*, 28:391.
- Thornton, P. K., & Herrero, M. (2010). Potential for mitigating greenhouse gas emissions from dairy systems in high-producing areas of East Africa. *Global Environmental Change*, 20(3), 525-535. [doi.org](https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2010.05.005)
- Tilley, J. M. A., & Terry, R. A. (1963). A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, 18(2), 104–111.
- Tozer, P. R. (2012). Least-cost ration formulation and its effect on profitability and dairy cow performance. *Journal of Dairy Science*, 95(5), 2611-2623. [doi.org](https://doi.org/10.3168/jds.2011-2000)
- Universidad Autónoma Metropolitana. (2016). Alimentación de ganado bovino con dietas altas en grano (2.^a ed.)
- Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant* (2nd ed.). Cornell University Press.
- Viglizzo, E. F. (1981). Manejo de la alimentación en pastoreo. *Boletín Técnico* N° 85.

- Vlaeminck, B., Fievez, V., Cabrita, A. R. M., Fonseca, A. J. M., & Dewhurst, R. J. (2006). Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 131(3-4): 389-417.
- Weimer, P. J. (2022). Redundancy, resilience, and resistance of the ruminal microbiome. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00296>
- Weiss, W. P. (1994). Estimation of digestibility of forages by laboratory methods [Estimación de la digestibilidad de los forrajes por métodos de laboratorio]. En G. C. Fahey Jr., M. Collins, D. R. Mertens, & L. E. Moser (Eds.), *Forage Quality, Evaluation, and Utilization* (pp. 644–681). American Society of Agronomy