

EFECTO DE LA ADICIÓN DE VITAMINAS B EN LA DIGESTIBILIDAD *In Vitro* DE DIETAS CON DIFERENTE FUENTE DE CARBOHIDRATOS

Effect of the Supplementation of B Vitamins on *In Vitro* Digestibility of Diets with Different Source of Carbohydrates

Oziel Dante Montañez Valdez¹, Enrique Octavio García Flores², Jesús Germán Peralta Ortiz³, José Eduardo García Martínez⁴, Rolando Rojo Rubio⁵ y Juan Humberto Avellaneda-Cevallos⁶

¹División de Bienestar y Desarrollo Regional, Departamento de Desarrollo Regional, CUSUR, Universidad de Guadalajara. Av. Prolongación Colón S/N. Carretera Libre Ciudad Guzmán-Guadalajara Km. 1. C.P. 49000. CD. Guzmán, Municipio de Zapotlán El Grande. Jalisco, México. Tel +52 341 575 22 22 Ext. 6005. Email montanez77@hotmail.com

²Centro de Investigaciones Pecuarias, Dpto. de Producción Agrícola CUCSUR, Universidad de Guadalajara. Autlán, Jalisco, México.

³Colegio de Postgraduados, Programa de Ganadería. Montecillo, Texcoco, México.

⁴Departamento de Nutrición Animal y Alimentos, UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

⁵Centro Universitario Temascaltepec, Universidad Autónoma del Estado de México. Temascaltepec, México.

⁶Unidad de Investigación, Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo, Los Ríos, Ecuador.

RESUMEN

Se realizó un estudio con el fin de observar el efecto de la adición de vitaminas hidrosolubles en la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y materia orgánica (DIVMO) en dietas con distinta fuente de carbohidratos (sorgo y cebada en grano), adicionadas con cinco dosis de vitaminas B (VB; 0, 2, 4, 6 y 8 g kg⁻¹ MS). Se encontraron diferencias significativas ($P < 0,01$), tanto para los efectos principales (fuente de carbohidratos y cantidad de VB), como para la interacción de éstos, en ambos casos (DIVMS y DIVMO). Al adicionar dietas con 8 g y como fuente de carbohidratos el sorgo, la DIVMS y DIVMO aumentó, pero no cambió cuando la fuente de carbohidratos fue la cebada. La adición de vitaminas hidrosolubles a dietas con sorgo mejora la DIVMS y DIVMO, observándose que la naturaleza y calidad de la dieta puede influir en la producción de vitaminas hidrosolubles por los microorganismos ruminales.

Palabras clave: *In vitro*, digestibilidad, vitaminas B.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of B vitamins on *in vitro* digestibility of dry matter (IVDMD) and organic

matter (IVOMD) of diets with different source of carbohydrates (sorghum and barley grain), with five concentrations of B vitamins (BV; 0, 2, 4, 6 and 8 g kg⁻¹ DM). There were differences ($P < 0.01$) for the principal effects (source of carbohydrates x concentration of BV), also for the interaction of them in both cases (IVDMD and IVOMD). At 8 g with sorghum increases the IVDMD and IVOMD, but did not change when the source of carbohydrates was the barley. The addition of B vitamins improves the IVDMD and IVOMD, also the nature and quality of the diet effect the microbial B vitamin production.

Key words: *In vitro*, digestibility, B vitamin.

INTRODUCCIÓN

Se han desarrollado tecnologías para que los productos de origen animal sean aprovechados en una forma más eficiente y con mayor calidad, así como animales con una conformación genética superior, altos productores y un mayor grado de especialización. Estos animales tienen requerimientos nutricionales más altos que son necesarios cubrirlos a través de dietas balanceadas y adicionadas con proteína de sobrepaso, energía protegida o promotores del crecimiento bacteriano, colorantes, saborizantes, etc. Un aspecto importante que es necesario destacar consiste en que, al tratar de aumentar el rendimiento de los animales altos productores, se elevan no solamente las necesidades de energía y proteína, sino también las

de vitaminas ya que éstas son de gran importancia en el funcionamiento del organismo [25]. Sin embargo, el uso de vitaminas hidrosolubles (VB) dentro de la alimentación de los rumiantes no es muy común, debido a que se asume que éstas son sintetizadas por los microorganismos del rumen [4, 30, 38]. En varios estudios se ha encontrado que la síntesis ruminal de algunas de las vitaminas del complejo B, como la niacina y tiamina, no alcanzan a llenar los requerimientos vitamínicos del animal, teniendo con esto una deficiencia de éstas. La síntesis de vitaminas del complejo B por los microorganismos, puede ser afectada por la naturaleza de la dieta ofrecida, estrés o por ser animales altos productores con un mayor requerimiento nutricional [9,12, 14-16, 20, 21, 26, 27, 36].

Se ha encontrado además, que la adición de vitaminas hidrosolubles aumenta el número de microorganismos del rumen, aumentando con ello la producción de proteína microbiana [11, 14, 17, 20, 21]. Dado lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la adición de vitaminas B en la digestibilidad *in vitro* de la materia seca y orgánica en dietas con diferente fuente de carbohidratos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se prepararon dietas cuyos ingredientes fueron pesados en dos balanzas analíticas con capacidad de 200 y 1000 g respectivamente; con la finalidad de obtener la mayor precisión posible, se preparó un kilogramo de cada dieta. Las dietas fueron preparadas con diferente fuente de carbohidratos: una con sorgo en grano y otra con cebada en grano (TABLA I); cada una de las dietas se le adicionó cinco cantidades diferentes de VB (fórmula comercial para cerdos, que contiene: riboflavina 4 g, cianocobalamina 10 mg, niacina 15 g, DL pantotenato de Ca 15 g, cloruro de colina 200 g, antioxidante 40 g y excipiente c. b. p. 2000 g): 0, 2, 4, 6 y 8 g kg⁻¹ materia seca (MS) tenien-

do así diez diferentes dietas o tratamientos. Posteriormente se procedió a mezclar los ingredientes en una forma manual, y homogenizar lo mejor posible, para después molerlas en un molino de martillo con criba de 1 mm y guardarlas en frascos de vidrio para evitar cualquier tipo de contaminación. Se realizó un análisis bromatológico a cada dieta con la finalidad de conocer su composición química mediante la técnica descrita por la A.O.A.C. [1] y después con los resultados obtenidos se calculó el total de nutrientes digestibles (TND), la energía digestible (ED) y la energía metabólica (EM), mostrándose los resultados en las TABLAS II y III.

Para la realización de las incubaciones *in vitro* se utilizó la técnica de Tilley y Terry [37] y con los datos obtenidos se calculó la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y de la materia orgánica (DIVMO). Para la obtención del líquido ruminal o inoculante se utilizaron 2 animales con cánula ruminal alimentados con alfalfa y un concentrado a base de sorgo y harinolina (*Gosssypium* spp.), durante 5 d, para posteriormente suspender el agua y el alimento 16 h antes de la extracción del líquido ruminal. El líquido ruminal extraído fue filtrado (para evitar partículas de la fracción sólida del rumen), al depositarlo en un recipiente (termo) precalentado para mantener su temperatura (39 C similar a la del rumen) y evitar la muerte de microorganismos por cambio brusco de la temperatura del rumen al termo. Los resultados obtenidos de la DIVMS y DIVMO, fueron analizados en un arreglo factorial 2 × 5 en un diseño completamente al azar con cinco repeticiones, siendo el factor A la fuente de carbohidratos solubles: sorgo como nivel uno y cebada como nivel dos, el factor B se refiere a la cantidad de VB en la dieta que cuenta con cinco dosis: 0, 2, 4, 6 y 8 g VB kg⁻¹ MS. El factor B, dosis de vitaminas, se ajustó a un modelo polinomial para obtener la superficie de respuesta, por ser factor de tipo cuantitativo, además se realizó una comparación de medias Tukey para ambos factores [35].

TABLA I
INGREDIENTES Y CANTIDADES DE LAS DIETAS / INGREDIENTS AND AMOUNTS OF THE DIET

Ingredientes	Dieta ^b	
	Sorgo (%)	Cebada (%)
Paja de avena	39,19	39,19
Sorgo en grano	44,18	-
Cebada en grano	-	44,18
Harinolina	14,71	14,71
Harina de hueso	1,37	1,37
Sal yodatada	0,50	0,50
Minerales traza ^a	0,05	0,05
Total	100,00	100,00

^aRumisal_{PIUS} (por cada kg contiene: Ca 130g, P 50g, Na 109g, Cl 200g, Fe 4,30g, Mg 3,33g, Mn 200mg, Cu 80mg, Co 66,6mg, I 4mg, Zn 80mg, Se 70mg). ^bCada dieta fue adicionada con 0,2,4,6,8 g kg⁻¹ MS vitaminas hidrosolubles (fórmula comercial para cerdos, que contiene: riboflavina 4 g, cianocobalamina 10 mg, niacina 15 g, DL pantotenato de Ca 15 g, cloruro de colina 200 g, antioxidante 40 g y excipiente c. b. p. 2000g).

TABLA II
ANÁLISIS QUÍMICO DE LAS DIETAS CON SORGO / CHEMISTRY ANALYSIS OF THE DIETS WITH SORGHUM

	Tratamientos ^W				
	S-0	S-2	S-4	S-6	S-8
MS %	90,68	90,50	91,15	91,31	89,92
MO %	84,34	84,32	84,16	84,91	83,39
PC %	14,82	15,14	14,85	15,13	16,96
FC %	16,77	16,01	15,35	14,37	15,42
EE %	3,07	3,35	2,98	2,60	2,54
ELN %	59,00	59,32	59,83	61,50	58,55
TND %	78,82	79,53	78,69	79,15	78,27
ED*	3,48	3,51	3,47	3,49	3,45
EM*	2,85	2,88	2,85	2,86	2,83
Cenizas	6,34	6,18	6,99	6,40	6,53

* Las energías digestible y metabolizable están dadas en Mcal/kg.

^WS-0: dieta testigo con grano de sorgo. S-2: dieta con grano de sorgo + 2 g kg⁻¹ MS. S-4: dieta con grano de sorgo + 4 g kg⁻¹ MS. S-6: dieta con grano de sorgo + 6 g kg⁻¹ MS. S-8: dieta con grano de sorgo + 8 g kg⁻¹ MS.

TABLA III
ANÁLISIS QUÍMICO DE LAS DIETAS CON CEBADA / CHEMISTRY ANALYSIS OF THE DIETS WITH BARLEY

	Tratamientos ^Z				
	C-0	C-2	C-4	C-6	C-8
MST %	88,86	90,31	89,56	89,74	90,73
MO %	83,08	84,17	83,33	82,77	84,65
Cenizas	5,78	6,14	6,23	6,97	6,08
PC %	17,02	17,41	16,68	18,02	17,21
FC %	13,73	13,91	13,72	13,78	14,14
EE %	1,60	2,24	2,64	2,34	3,11
ELN %	61,87	60,30	60,73	58,89	59,46
TND %	78,55	78,82	79,37	78,14	79,79
ED*	3,46	3,48	3,50	3,45	3,52
EM*	2,84	2,85	2,87	2,83	2,88

* Las energías digestible y metabolizable están dadas en Mcal/kg.

^ZC-0: dieta testigo con grano de cebada. C-2: dieta con grano de cebada + 2 g kg⁻¹ MS. C-4: dieta con grano de cebada + 4 g kg⁻¹ MS. C-6: dieta con grano de cebada + 6 g kg⁻¹ MS. C-8: dieta con grano de cebada + 8 g kg⁻¹ MS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en cuanto a DIVMS y DIVMO se muestran en las TABLAS IV y V respectivamente. Los resultados obtenidos difieren a los mostrados por varios autores [6, 7, 12, 28, 38], en los que se muestra que la adición de dietas con vitaminas del complejo B no tiene ningún efecto sobre la DIVMS y DIVMO. Se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas ($P < 0,01$) tanto para los efectos principales como para la interacción (fuente de carbohidratos x cantidad de VB) en ambos casos (DIVMS y DIVMO), a diferencia

de lo encontrado por Riddell y col. [33, 34], quienes encontraron que al adicionar vitaminas B a las dietas, mejoraba numéricamente la DIVMS y por consiguiente la DIVMO, pero sin encontrar diferencias significativas. Al hacer la comparación de medias entre la dosis de VB con las distintas fuentes de carbohidratos se observó que la DIVMS aumenta al adicionar la dieta con 8 g kg⁻¹ MS VB, cuando la fuente de carbohidratos fue el sorgo, mientras que cuando la fuente de carbohidratos fue la cebada se observa sólo una diferencia numérica mas no significativa, al adicionar 2 g de VB. Estos resultados concuerdan con los encontrados por otros investigadores [18, 19, 22-

24], en los que se observaron que la fuente de carbohidratos afecta la producción de vitaminas B, con lo que se afirma que la naturaleza y calidad de la dieta afecta la síntesis de vitaminas B [10, 13, 32]. Sin embargo, en la DIVMO mostró una tendencia cúbica solamente en dietas con cebada, mientras que en las dietas con sorgo no se encontró ningún efecto (FIG. 1). En cuanto a la DIVMS se encontró una tendencia cúbica, tanto para la dieta con sorgo (FIG. 2) como para la de cebada (FIG. 3); aquí se observa que existe una creciente tendencia en ambos casos, por lo que existe la posibilidad de encontrar una mayor respuesta a cantidades superiores de VB que los utilizados en este estudio. Se ha observado que la adición de dietas con VB incrementa el número de microorganismos en

fluido ruminal [8, 11, 31] aumentando la síntesis y producción de proteína bacteriana [22, 29, 38], pudiendo incluso neutralizar los efectos negativos de la harinolina (*Gosssypium* spp.) [20]. Sin embargo, estos resultados difieren de los mostrados por varios otros investigadores [2, 3, 5, 21] quienes encontraron en incubaciones *in vitro* que tenían la suficiente cantidad endógena de vitaminas B, por lo que su adición no tiene efecto en el crecimiento de los microorganismos del rumen, y por consiguiente no hay un incremento en la producción de proteína microbiana. En la DIVMS al aumentar la dosis de vitaminas en la dieta con sorgo, a los 4 y 6 g, la digestibilidad tiende a disminuir por lo que estas cantidades intermedias son deprimentes para la DIVMS de dietas con sorgo, observándose este mismo

TABLA IV
DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE LA MATERIA SECA DE LA DIETAS (%) / DIGESTIBILITY *IN VITRO* OF THE DRY MATTER OF THE DIETS (%)

Fuente de carbohidratos	Cantidad de Vitaminas Hidrosolubles (g kg ⁻¹ MS)				
	0	2	4	6	8
Sorgo	76,87 ^{ab}	77,13 ^{ab}	74,45 ^b	75,89 ^b	80,92 ^a
Cebada	77,52 ^a	78,31 ^a	72,90 ^b	72,14 ^b	74,36 ^{ab}

^{abc}Medias con la misma literal en la misma hilera son no significativos (P < 0,05). La calidad de los tratamientos está dada en orden alfabético.

TABLA V
DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE LA MATERIA ORGÁNICA DE LAS DIETAS (%) / DIGESTIBILITY *IN VITRO* OF THE ORGANIC MATTER OF THE DIETS (%)

Fuente de Carbohidratos	Cantidad de Vitaminas Hidrosolubles (g kg ⁻¹ MS)				
	0	2	4	6	8
Sorgo	73,58 ^{ab}	73,17 ^{ab}	70,34 ^b	72,07 ^b	77,51 ^a
Cebada	68,17 ^{ab}	69,95 ^a	63,26 ^{bc}	62,21 ^c	65,48 ^{abc}

^{abc}Medias con la misma literal en la misma hilera son no significativos (P < 0,05). La calidad de los tratamientos está dada en orden alfabético.

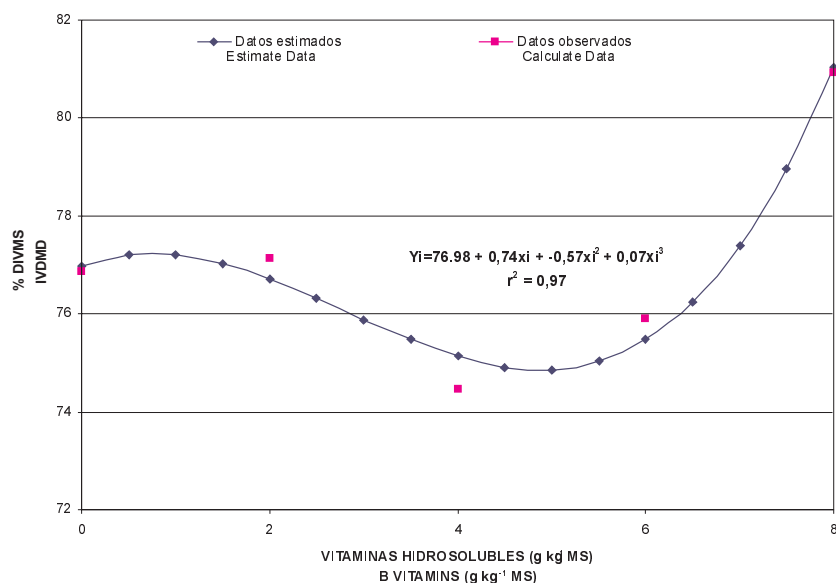


FIGURA 1. SUPERFICIE DE RESPUESTA DE LA DIVMO DE DIETAS CON CEBADA / TENDENCY RESPONSE OF THE IVOMD THE DIETS WITH BARLEY.

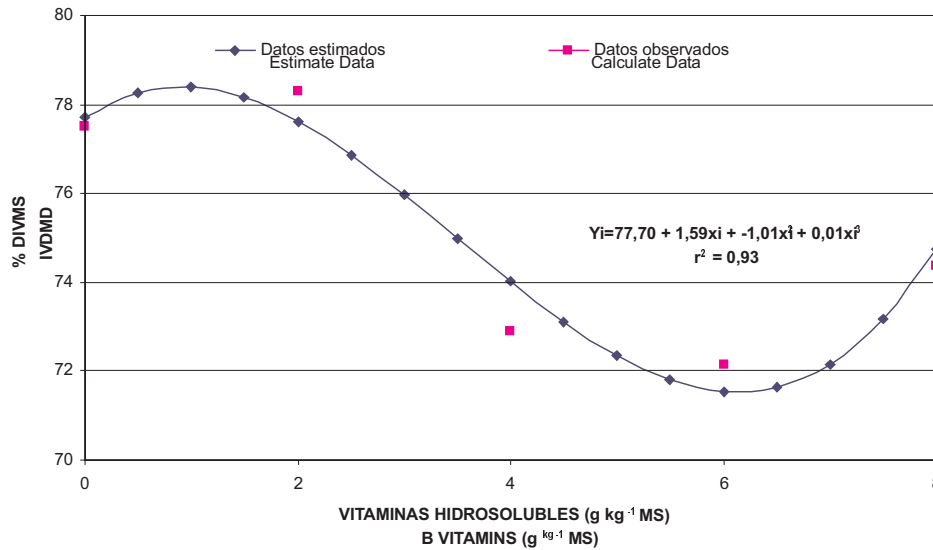


FIGURA 2. SUPERFICIE DE RESPUESTA DE LA DIVMS DE DIETAS CON SORGO / TENDENCY RESPONSE OF THE IVDM OF DIETS WITH SORGHUM.

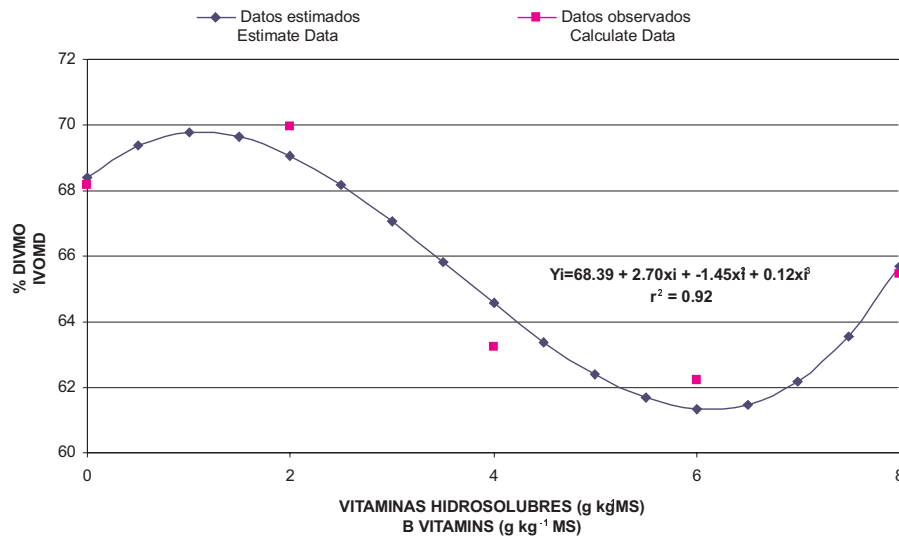


FIGURA 3. SUPERFICIE DE RESPUESTA DE LA DIVMO DE DIETAS CON CEBADA / TENDENCY RESPONSE OF IVDM OF DIETS WITH BARLEY.

fenómeno en la DIVMO de la dieta con cebada aunque en la dosis de 8 g se muestra un aumento, aunque inferior al tratamiento sin vitaminas.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio se concluye que la adición de vitaminas B aumenta la DIVMS y por consiguiente de la DIVMO. Además, la fuente de carbohidratos influye significativamente en la digestibilidad *in vitro* de la materia seca y orgánica, con lo que se prueba que la naturaleza y calidad de la dieta influye en la producción de vitaminas hidrosolubles en el rumen. Existe la posibilidad de encontrar una mayor respuesta si se utilizan dosis superiores

a las empleadas en el presente estudio, ya que se observa una tendencia creciente en la dosis más alta (8 g kg⁻¹ MS VB).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] AOAC. **Official Methods of Analysis** (14th Ed.) Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C. 1298 pp. 1985.

[2] ABDOLI, H.; SCHAEFER, D.M. Effects of two dietary niacin concentrations on ruminal fluid free niacin concentration, and of supplemental niacin and source of inoculum on *in vitro* microbial growth, fermentative activity and nicotinamide adenine dinucleotide pool size. **J. Anim. Sci.** 62:254-262. 1986.

- [3] ABDOULI, H.; SCHAEFER, D.M. Impact of niacin and length of incubation on protein synthesis, soluble to total protein ratio and fermentative activity of ruminal microorganisms. **J. Anim. Sci.** 62:244-253. 1986.
- [4] AGRAWALA, I.P.; HUFFMAN, C.F.; LUECKE, R.W.; DUNCAN, C.W. A quantitative study of rumen synthesis in the bovine on natural and purified rations. III. Riboflavin, pantothenic acid and niacin. **J. Nutr.** 48:631-642. 1953.
- [5] BREVES, G.; HOELLER, H.; HARMEYER, J.; MARTENS, H. Thiamin balance in the gastrointestinal tract of sheep. **J. Anim. Sci.** 51:1177-1183. 1980.
- [6] CLIFFORD, A.J.; GOODRICH, R.D.; TILLMAN, A.D. Effects of supplementing ruminant all concentrate and purified diets with vitamins of the B complex. **J. Anim. Sci.** 26:400-404. 1967.
- [7] COLE, N.A.; MCLAREN, J.B.; HUTCHESON, D.P. Influence of preweaning and B-vitamin supplementation of the feedlot receiving diet on calves subjected to marketing and transit stress. **J. Anim. Sci.** 54:911-919. 1982.
- [8] DOREAU, M.; OTTOU, J.F. Influence of niacin supplementation on *in vivo* digestibility and ruminal digestion in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 79:2247-2254. 1996.
- [9] DUBESKI, P.L.; OWENS, F.N.; SONG, W.O.; COBURN, S.P.; MAHUREN, J.D. Effects of B vitamin concentration of feed-restricted beef calves with bovine herpesvirus-1. **J. Anim. Sci.** 74:1358-1366. 1996.
- [10] DUMOULIN, P.G.; GIRARD, C.L.; MATTE, J.J.; ST-LAURENT, G.J. Effects of a parenteral supplement of folic acid and its interaction with the level of feed intake on hepatic tissues and growth performance of young dairy heifers. **J. Anim. Sci.** 69:1657-1666. 1991.
- [11] ERICKSON, P.S.; TRUSK, A.M.; MURPHY, M.R. Effects of niacin source on epinephrine stimulation of plasma nonesterified fatty acid and glucose concentrations, on diet digestibility and on rumen protozoal numbers in lactating dairy cows. **J. Nutr.** 120:1648-1653. 1990.
- [12] GIRARD, C.L. B-complex vitamins for dairy cows: A new approach. **Can. J. Anim. Sci.** 78:71-90. 1998.
- [13] GIRARD, C.L.; CHIQUETTE, J.; MATTE, J.J. Concentrations of folates in ruminal content of steers: Responses to a dietary supplement of folic acid in relation with the nature of the diet. **J. Anim. Sci.** 72:1023-1028. 1994.
- [14] GIRARD, C.L.; MATTE, J.J. Effects of dietary supplements of folic acid on lactational performance of dairy cows. **J. Dairy Sci.** 79 (Supp.1):199. 1996.
- [15] GIRARD, C.L.; MATTE, J.J. Changes in serum concentrations of folates, piridoxal, piridoxal-5-phosphate and vitamin B₁₂ during lactation of dairy cows fed dietary supplements of folic acid. **Can. J. Anim. Sci.** 79:107-113. 1999.
- [16] HAENLEIN, F.W. **Topics for success with dairy goats.** College of Agricultural Sciences Cooperative Extension Service and Agricultural Experiment Station of the University of Delaware. U.S.A. A.S. & A.B. Dairy Extension Bulletin # 105. 6 pp. 1987.
- [17] HARMON, D.; HUNTINGTON, G. Digestión y metabolismo de las proteínas en rumiantes. **Curso Internacional en Nutrición de Rumiantes.** Colegio de Posgraduados, Montecillo, Texcoco, México. 20 de Sept. 53 pp. 1992.
- [18] HAYES, B.W.; MITCHELL, J.R.; GELITTLE, C.O.; BRADLEY, N.W. Concentrations of B-Vitamin in the ruminal fluid of steers fed different levels and physical forms of hay and grain. **J. Anim. Sci.** 25:539-542. 1966.
- [19] HOLLIS, L.; CHAPPEL, C.F.; MACVICAR, R.; WHITEHAIR, C.K. Effect of ration on vitamin synthesis in the rumen of sheep. **J. Anim. Sci.** 13:732-738. 1954.
- [20] HORNER, J.L.; COPPOCK, C.E.; MOYA, J.R.; LABORE, J.M.; LANHAM, J.K. Effects of niacin and whole cottonseed on ruminal fermentation, protein degradability, and nutrient digestibility. **J. Dairy Sci.** 71:1239-1247. 1988.
- [21] HORNER, J.L.; WINDLE, L.M.; COPPOCK, C.E.; LABORE, J.M.; LANHAM, J.K.; NAVE, H. Effects of whole cottonseed, niacin, and niacinamide on *in vitro* rumen fermentation and on lactating holstein cows. **J. Dairy Sci.** 71:3334-3344. 1988.
- [22] HUNT, C.H.; BENTLEY, O.G.; HERSHBERGER, T.V.J.; CLINE, H. The effect of carbohydrates and sulfur on B Vitamin synthesis, cellulose digestión and urea utilization by rumen microorganisms *in vitro*. **J. Anim. Sci.** 13:570-578. 1954.
- [23] HUNT, C.H.; BURROUGHS, E.W.; BETHKE, R.M.; SCHALK, A.F.; GERLAUGH, P. Further studies on riboflavin and thiamine in the rumen content of cattle. II. **J. Nutr.** 25:207-212. 1943.
- [24] HUNT, C.H.; KICK, C.H.; BURROUGHS, E.W.; BETHKE, R.M.; SCHALK, A.F.; GERLAUGH, P. Studies on riboflavin and thiamin in the rumen content of cattle. **J. Nutr.** 21:85-89. 1941.
- [25] KOLB, E. **Microfactores en Nutrición Animal.** Editorial Acribia. Zaragoza España. 114-121 pp. 1971.
- [26] MAJEE, D.N.; SVHWAB, E.C.; BERTICS, S.J.; SEYMOUR, W.M.; SHAVER, R.D. Lactation performance by dairy cows fed supplemental biotin and b-vitamin blend. **J. Dairy Sci.** 86:2106-2112. 2003.
- [27] MCDOWELL, L.R. Suplementos de Vitaminas en Nutrición Animal. **Tercera Reunión de Nutrición Animal.** Departamento de Ciencia Animal, División de Nutrición

- Animal. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. 24 de Nov. 15-22 pp. 1990.
- [28] MCLAREN, G.A.; ANDERSON, G.C.; BARTH, K.M. Influence of folic acid, vitamin B₁₂ and creatine on nitrogen utilization by lambs fed high levels of non-protein nitrogen. **J. Anim. Sci.** 24:329. 1965.
- [29] MIZWICKI, K.L.; OWENS, F.N.; ISAACSON, H.R.; SHOCKEY, B. Supplemental dietary niacin for lambs. **J. Anim. Sci.** 41:411 (Abstr). 1975.
- [30] MORRISON, F.B.; MORRISON, E.B.; MORRISON, S.H.; MORRISON, R.B.; MORRISON, H.W. **Biblioteca Técnica de Agricultura y Ganadería. Fundamentos de la Nutrición Animal. Productos Alimenticios.** U.T.E.H.A. Reimpresión. México. Tomo I. 169 pp. 1977.
- [31] OTTOU, J.F.; DOREAU, M. Influence of niacin on in vitro ruminal fermentation and microbial synthesis depending on dietary factors. **Anim. Feed Sci Technol.** 58:187-199. 1996.
- [32] POE, S.E.; MITCHELL, J.R.; GEELY, D.G. Rumen development in lambs.III. Microbial B-Vitamin Synthesis. **J. Anim. Sci.** 34:826. 1972.
- [33] RIDDELL, D.O.; BARTLEY, E.E.; DAYTON, A.D. Effect of nicotinic acid on rumen fermentation *in vitro* and *in vivo*. **J. Dairy Sci.** 63:1429-1436. 1980.
- [34] RIDDELL, D.O.; BARTLEY, E.E.; DAYTON, A.D. Effect of nicotinic acid on microbial protein synthesis *in vitro* and on dairy cattle growth and milk production. **J. Dairy Sci.** 64:782-791. 1981.
- [35] RODRÍGUEZ, A.J.M. **Métodos de Investigación Pecuaria.** 1ra. edición. Editorial Trillas México, D. F. 208 pp. 1991.
- [36] SHIELDS, D.R.; SCHAEFER, D.M.; PERRY, T.W. Influence of niacin supplementation and nitrogen source on rumen microbial fermentation. **J. Anim. Sci.** 57:1576-1583. 1983.
- [37] TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for *in vitro* digestion of forage crops. **J. Brit. Grassld. Soc.**18:104-111. 1963.
- [38] ZINN, R.A.; OWENS, F.N.; STUART, R.L.; DUNBAR, J.R.; NORMAN, B.B. B-Vitamin supplementation of diets for feedlot calves. **J. Anim. Sci.** 65:267-277. 1987.