

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**DIGESTIBILIDAD Y AMBIENTE RUMINAL EN OVINOS ALIMENTADOS
CON PASTURA FRESCA UTILIZANDO DISTINTOS SUPLEMENTOS
ENERGÉTICOS**

por

**Victoria ELIZONDO
Ana Laura FALERO
Alicia PEREIRA**



TESIS DE GRADO presentada
como uno de los requisitos para
obtener el título de Doctor en
Ciencias Veterinarias
(Orientación Higiene, Inspección,
Control y Tecnología de los
Alimentos)

MODALIDAD Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2007**

082 TG
Digestibilidad
Elizondo, Victoria



TESIS DE GRADO aprobada por:

Presidente de Mesa:



Roberto Kremer

Segundo Miembro (Tutor):



Islamey Tébot

Tercer Miembro:

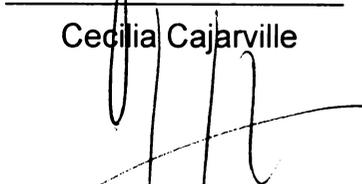


Alejandro Britos

Co-tutores:



Cecilia Cajarville



José Luis Repetto

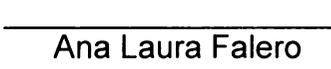
Fecha:

Montevideo, 20 de diciembre de 2007

Autores:



Victoria Elizondo



Ana Laura Falero



Alicia Pereira

AGRADECIMIENTOS

Quisiéramos expresar nuestros más sinceros agradecimientos a todas aquellas personas e instituciones que han contribuido directa e indirectamente para que este trabajo llegue a su término:

A nuestras familias y amigos, el mayor de los agradecimientos por su invaluable e incondicional soporte, en todo sentido, confiando ciegamente en nosotras a lo largo de todos estos años, contribuyendo y siendo parte de nuestros logros.

A la Dra. Islamey Tebot por su tutoría, su apoyo a cada momento tanto a nivel humano como académico, su sincera preocupación, amistad, y entrega incondicional para que logremos nuestras metas.

A los Dres. Cecilia Cajarville y José Luis Repetto por su invaluable respaldo como co-tutores, su confianza, su impulso, la formación que nos brindaron y la paciencia que nos tuvieron durante todo el transcurso de este trabajo.

A todo los demás integrantes del Depto. de Nutrición Animal de la Facultad de Veterinaria por hacernos sentir parte de ellos, por aguantarnos y por su constante disponibilidad: Alejandro Britos, Analía Pérez, Sebastián Brambillasca y Santiago Monteverde.

A los integrantes del Depto. de Bovinos: Martín Aguerre y Alejandro Mendoza por su apoyo, colaboración y por acompañarnos en esta tarea con la mejor disponibilidad.

Al Depto. de Fisiología por recibirnos en todo momento, con las puertas abiertas, por su colaboración incondicional y por bancarnos siempre.

Al personal del Campo Experimental N°2 (Libertad) de la Facultad de Veterinaria por su colaboración en el desarrollo del trabajo experimental.

A César Echaidés y Ana Secchi, por su participación en las actividades de campo, su trabajo en equipo y por los momentos compartidos.

Al equipo quirúrgico por su ayuda, participación y asistencia técnica durante el trabajo de campo, especialmente al Dr. Carlos Rodríguez.

En fin, queremos extender el agradecimiento a todo aquel que de una u otra forma haya contribuido con el alcance de este logro, por pequeño que sea su aporte, muchas gracias...

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	V
LISTA DE ABREVIATURAS	VI
1. RESUMEN	1
2. SUMMARY	2
3. INTRODUCCIÓN	3
3.1. PRINCIPALES NUTRIENTES DIGESTIBLES	3
3.1.1. <u>Carbohidratos</u>	3
3.1.1.1. Carbohidratos fibrosos.....	4
3.1.1.2. Carbohidratos no fibrosos.....	5
3.1.2. <u>Compuestos Nitrogenados</u>	6
3.1.3. <u>Sincronización entre aportes energéticos y nitrogenados</u>	7
3.2. AMBIENTE RUMINAL	8
3.2.1. <u>pH</u>	8
3.2.2. <u>Ácidos Grasos Volátiles</u>	9
3.2.3. <u>Nitrógeno Amoniacal</u>	10
3.3. DIGESTIBILIDAD	11
3.4. CARACTERIZACIÓN DEL PROBLEMA	12
4. PLANTEO DE HIPÓTESIS	13
5. OBJETIVOS	13
5.1. OBJETIVO GENERAL.....	13
5.2. OBJETIVOS PARTICULARES.....	13
6. MATERIALES Y MÉTODOS	13
6.1. ANIMALES, DIETAS Y TRATAMIENTOS.....	13
6.2. RECOLECCIÓN, ANÁLISIS Y CÁLCULOS REALIZADOS.....	16
6.2.1. Colección de muestras.....	16
6.2.2. Composición química de la pastura, heces y orina.....	16
6.2.3. Digestibilidad y balance nitrogenado.....	16
6.2.4. Ambiente ruminal.....	17
6.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	17
7. RESULTADOS	17
8. DISCUSIÓN	21
9. CONCLUSIONES	26
10. BIBLIOGRAFÍA	27

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Página

Tabla I. Disponibilidad de la pastura y composición química de los alimentos ofrecidos durante el trabajo experimental.....	14
Tabla II. Cantidad y composición química de cada dieta ofrecida durante el trabajo experimental.....	15
Tabla III. Coeficientes de Digestibilidad de MS, MO, PB, FND, FAD para el período I (forraje fresco en estadio vegetativo tardío).....	17
Tabla IV. Coeficientes de Digestibilidad de MS, MO, PB, FND, FAD para el período II (forraje fresco en estadio vegetativo temprano).....	18
Tabla V. Coeficientes de Digestibilidad de MS, MO, PB, FND, FAD para ambos períodos en conjunto (estadio vegetativo tardío & temprano).....	18
Tabla VI. Retención de Nitrógeno en período I, II y ambos períodos en conjunto...	19
Tabla VII. Valores medios de pH ruminal en el período II.....	19
Tabla VIII. Valores medios de concentración de N-NH ₃ en líquido ruminal en el período II.....	20
Figura 1. Valores medios de pH ruminal en ovinos consumiendo forraje (F), forraje-grano (FG) y forraje-grano-melaza (FGM) en función del horario de extracción.....	20
Figura 2. Valores medios de concentración de N-NH ₃ ruminal en ovinos consumiendo forraje (F), forraje-grano (FG) y forraje-grano-melaza (FGM), en función del horario de extracción.....	21

LISTA DE ABREVIATURAS

aa: aminoácidos
AGV: ácidos grasos volátiles
AS: azúcares solubles
BN: balance nitrogenado
CD: coeficiente de digestibilidad
CH: carbohidratos
CHE: carbohidratos estructurales
CHF: carbohidratos fibrosos
CHNE: carbohidratos no estructurales
CHNF: carbohidratos no fibrosos
CHRF: carbohidratos rápidamente fermentescibles
CHS: carbohidratos solubles
DFND: digestibilidad de fibra neutro detergente
DMO: digestibilidad de materia orgánica
DMS: digestibilidad de materia seca
E: energía
F: grupo alimentado con forraje
FAD: fibra ácido detergente
FG: grupo alimentado con forraje y grano
FGM: grupo alimentado con forraje, grano y melaza
FND: fibra neutro detergente
kg^{0,75}: kg de peso metabólico
MO: materia orgánica
mo: microorganismos
MS: materia seca
N: nitrógeno
NH₃: amoníaco
N-NH₃: nitrógeno amoniacal
NNP: nitrógeno no proteico
PB: proteína bruta
PC: proteína cruda
PI: Período I
PII: Período II
PM: proteína microbiana
PV: peso vivo

1. RESUMEN



El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la suplementación y del tipo de suplemento energético utilizado sobre la digestibilidad, balance nitrogenado y ambiente ruminal de ovinos alimentados con pasturas frescas. En este estudio 18 ovejas Corriedale provistas de fístulas ruminales, alojadas en jaulas metabólicas se dividieron al azar en 3 grupos: F (Forraje, n=6), FG (Forraje+Grano, n=6), FGM (Forraje+Grano+Melaza, n=6), alimentadas sucesivamente con forraje en estadio vegetativo tardío (PI) y forraje en estadio vegetativo temprano (PII). De las 4 comidas diarias, el suplemento energético fue suministrado con la 1ª y la 3ª. Se colectaron muestras de alimento ofrecido y rechazado, materia fecal y orina, para determinar digestibilidad de: MS, MO, PB, FND, FAD y balance nitrogenado. Muestras de líquido ruminal extraídas cada hora durante 24 horas fueron analizadas para pH y amoníaco. La DMS y DMO aumentaron en los grupos FG y FGM en PI y PI&PII. La digestibilidad de la FND disminuyó en los grupos suplementados en PII y PI&PII. Los valores medios de pH (F=6,33; FG=6,15; FGM=6,51; P<0,05) y la concentración de amoníaco ruminal (F=17,44; FG=18,55; FGM=18,03 mg/dl, ns), se encontraron dentro de valores óptimos para el normal funcionamiento ruminal. La concentración de amoníaco no fue afectada por el agregado de suplementos energéticos.

Palabras clave: pasturas frescas, suplementación energética, digestibilidad, ambiente ruminal, ovinos.

2. SUMMARY

The aim of this work was to determine the effect of energy supplementation and the type of supplement on digestibility, nitrogen balance and ruminal environment in sheep consuming fresh forage. 18 Corriedale ewes fitted with ruminal cannulas, housed in metabolic cages were randomly divided into three groups: F (Forage, n=6), FG (Forage+Grain, n=6) and FGM (Forage+Grain+Molasses, n=6), were fed successively with forage in late vegetative stage (PI) and early vegetative stage (PII). Among the 4 daily meals, the energy supplement was supplied with the first and third one. Samples of offered and refused meals, faeces and urine were collected in order to determine DM, OM, CP, FDN, FDA digestibilities and nitrogen balance. N-ammonia levels and pH in ruminal fluid were analysed every hour within a 24 hour period. DMD and OMD increased in FG and FGM groups during PI and PI&PII. However, FDN digestibility decreased in the same groups for this period. Mean values of pH (F=6,33; FG=6,15; FGM=6,51; $P<0,05$) and N-ammonia concentration (F=17,44; FG=18,55; FGM=18,03 mg/dl, ns) are optimal for the normal ruminal function. N-ammonia concentration was not affected by energy supply.

Key words: fresh forage, energy supplementation, digestibility, ruminal environment, sheep.

3. INTRODUCCIÓN

La naturaleza dinámica de los procesos digestivos de los rumiantes demanda un exhaustivo estudio de las complejas interacciones entre animal hospedero, microorganismos (mo) del rumen y sustratos. Los carbohidratos (CH) y las proteínas son los principales sustratos fermentables para la población microbiana ruminal. De estos nutrientes obtendrán básicamente la energía (E) y los compuestos nitrogenados para su crecimiento (Nápoli y Santini, 1987).

En el rumen ocurren los primeros procesos digestivos que influirán sobre la performance del animal. Un ambiente ruminal óptimo será aquel que maximice la actividad microbiana con el consiguiente incremento de la digestibilidad del forraje y alta producción de mo ruminales (Rearte y Santini, 1989).

Trabajos realizados en nuestra región muestran que el ambiente ruminal de animales pastoreando praderas templadas de alta calidad, es distinto del indicado en la bibliografía como ambiente ruminal óptimo para animales con dietas a base de forrajes, siendo más semejante al encontrado en animales estabulados con alto suministro de concentrados (Rearte y Santini, 1989; Repetto et al., 2005).

Según diversos autores, el pH ruminal se acidifica con el agregado de suplementos energéticos, afectándose la flora celulolítica y de esta manera la digestibilidad de la fibra. Estudios realizados en nuestro país (Cajarville et al., 2000; Cajarville et al., 2006) muestran que en animales alimentados con praderas de buena calidad y suplementados con granos (trigo y maíz), el pH medio resultante se encuentra dentro de los niveles límite para mantener el normal funcionamiento de la flora celulolítica ruminal.

Por tanto, es de interés determinar las repercusiones sobre el ambiente ruminal y digestibilidad de animales alimentados con una dieta a base de forraje fresco, analizando las variaciones que se presentan con el agregado de distintos suplementos energéticos.

3.1. PRINCIPALES NUTRIENTES DIGESTIBLES

3.1.1. Carbohidratos

Los CH son la principal fuente de E para los mo ruminales (Hungate, 1966) y el componente cuantitativamente más importante de la dieta de los rumiantes. El metabolismo microbiano ruminal se regula fundamentalmente por la cantidad y la velocidad de fermentación de los CH, que proporcionan esqueletos carbonados y E en forma de ATP para el crecimiento microbiano (Stern et al., 1994). Los productos finales de la fermentación microbiana que tienen valor nutritivo para el hospedador son los ácidos grasos volátiles (AGV), principalmente acetato, propionato y butirato, que suponen del 70% al 80% de las necesidades de energía metabolizable del rumiante (Sutton et al, 1985).

Los sistemas de producción llevados a cabo en nuestra región determinan el consumo de grandes cantidades de forrajes que resulta en la ingestión de altos niveles de fibras vegetales. Las células vegetales están constituidas básicamente por una fracción correspondiente al contenido celular y otra a la pared. El contenido celular posee una digestibilidad casi total, mientras que la pared celular tiene una digestibilidad muy variable, que se manifiesta en función de la proporción en que se encuentran sus componentes: hemicelulosa, celulosa y lignina. Estos tres elementos químicos constituyen en conjunto la fibra vegetal (Van Soest, 1994), y es su cantidad

como su calidad lo que más afecta la digestibilidad de la dieta (McDonald et al., 2002).

Van Soest (1982) divide los CH en fibrosos (celulosa, hemicelulosa y lignina) y no fibrosos (almidón, azúcares solubles, pectinas y ácidos orgánicos). La NRC (2001) los clasifica según su ubicación en CH estructurales y CH no estructurales, en donde las pectinas junto a la celulosa, hemicelulosa y lignina forman el grupo de los CH estructurales; y el almidón, los azúcares solubles y los ácidos orgánicos constituyen el grupo de los CH no estructurales.

3.1.1.1. Carbohidratos fibrosos

Constituyentes de la pared de las células vegetales, tienen baja concentración energética y pueden limitar la ingestión, pero la capacidad microbiana para degradarlos es lo que hace especialmente beneficiosa la simbiosis con los mo ruminales, ya que las enzimas propias de los rumiantes no los pueden digerir (Chesson y Forsberg, 1988; Orskov y Ryle, 1998).

Con fines prácticos los componentes de las paredes vegetales se clasifican en términos de fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD) (Van Soest, 1994), y se utilizan estos valores para predecir la calidad de los forrajes, ingestión de materia seca (MS), digestibilidad y valor energético de los alimentos (Calsamiglia, 1997).

Se denomina *fibra neutro detergente* al material insoluble en una solución detergente neutra; y se compone de hemicelulosa, celulosa y lignina, pudiendo contener residuos de almidón, cenizas y nitrógeno (N) (Van Soest, 1994). El procedimiento para determinar la FND separa los componentes del forraje solubles y totalmente digestibles, de los que no lo son y que dependen de la fermentación microbiana en el rumen para que se conviertan en parcialmente disponibles para el animal. Se denomina *fibra ácido detergente* al material insoluble en una solución detergente ácida, compuesta por celulosa y lignina, aunque puede contener residuos de N y minerales (Van Soest, 1994).

La *lignina* es un compuesto fenólico de alto peso molecular que se encuentra íntimamente relacionado con los CHF, lo que determina su inclusión como parte de la fibra vegetal (Cheng et al., 1991). Adiciona rigidez a la estructura y limita la disponibilidad de CHF para los mo ruminales, aumentando su contenido según avanza la maduración fisiológica de la planta (Cheng et al 1991). Los contenidos de los alimentos en FAD y lignina se consideran como indicadores de la digestibilidad relativa de los forrajes (Fahey y Berger, 1988). La diferencia entre los valores obtenidos de FAD y FND, permite estimar la proporción de *hemicelulosa* presente en los alimentos.

El grado de degradación de la fibra no solamente dependerá de la proporción de los componentes que la forman, sino que es más complejo y se verá afectado por diversos factores: accesibilidad de los mo al substrato, densidad y actividad de las poblaciones celulolíticas presentes en el rumen, factores microbianos que controlan la adhesión e hidrólisis mediante complejos enzimáticos de las poblaciones microbianas adherentes; y de factores relacionados con el animal: masticación, salivación y cinética ruminal (Varga y Kolver, 1997).

Las bacterias celulolíticas producen glucosa o pentosas como productos intermedios, y utilizan mayoritariamente vías fermentativas que conducen a la producción de acetato como producto final (Calsamiglia, 1997).

El contenido de FND se considera más frecuentemente como indicador del potencial de consumo entre o en una especie forrajera (Fahey y Berger, 1988).Una

alta correlación negativa fue encontrada entre consumo de MS y contenido de FND o pared celular de los forrajes (Mertens, 1973; Osbourn et al., 1974). Cuando los animales se alimentan de forrajes con un alto contenido de fibra el consumo decrece. El aumento en los contenidos fibrosos de la dieta hace que se recargue la capacidad del rumen y se incremente el tiempo de permanencia de esta fibra en el tracto digestivo (NRC, 1985; Mertens, 1994; Jung y Allen, 1995)

Sin embargo, el consumo de fracciones fibrosas aporta una textura física al contenido ruminal que permite el mantenimiento de un medio ruminal adecuado (Bach y Calsamiglia, 2006), así como también condiciones de pH que favorezcan la digestibilidad (Nocek y Grant, 1987). Estas características funcionales dependen del tipo, forma y tamaño de la fibra, así como del grado de lignificación, hidratación y volumen (Varga y Kolver, 1997), surgiendo así el concepto de *fibra efectiva* como índice de valoración de la capacidad real de la fibra como estimulante de la rumia y la salivación (Calsamiglia et al., 2002; Bach y Calsamiglia, 2006). Por lo tanto, la formulación de raciones adecuada debe orientarse a buscar el equilibrio entre ingestión máxima de MS y el mantenimiento de funciones y condiciones normales del rumen incluyendo ciertos niveles mínimos de FND y de FAD (Calsamiglia, 1997).

3.1.1.2. Carbohidratos no fibrosos

Los *carbohidratos no fibrosos (CHNF)* o *carbohidratos rápidamente fermentescibles (CHRF)*, aportan altas cantidades de E, y están representados básicamente por CH de reserva de los vegetales, azúcares solubles (AS), pectinas y ácidos orgánicos (Nápoli y Santini, 1987). Forman parte de los concentrados energéticos comúnmente utilizados como suplementos en dietas a base de forrajes frescos; incluyéndose en dos grandes grupos: *azúcares y extractos azucarados* (glucosa, sacarosa, melaza), y *granos de cereales* (maíz, trigo, avena, cebada, sorgo), que proveen de materia orgánica (MO) extra fermentable para la biomasa microbiana ruminal (Obara et al., 1991).

La *melaza* en su forma líquida o deshidratada es un concentrado de CHRF, a base de azúcares simples, con alta proporción de sacarosa, siendo frecuentemente utilizada en rumiantes como suplemento por su alta concentración energética y palatabilidad (Hall, 2002). Existen evidencias *in vitro* del aumento de la proteína microbiana ruminal a partir de la fermentación de azúcares (Stokes et al 1991). Asimismo Sutton et al. (2001) afirma que a medida que aumentan los azúcares dietéticos aumenta el consumo de MS de la dieta.

Los *carbohidratos solubles (CHS)* en las pasturas: CH de reserva, AS y pectinas, son rápidamente utilizados por los mo ruminales tras la degradación de las paredes vegetales, constituyendo un aporte energético fundamental para un adecuado funcionamiento ruminal. Se encuentran formando parte de los contenidos celulares, a excepción de las pectinas que es un CH estructural pero con características de fermentescibilidad similares al resto de los CH solubles de las pasturas. El contenido celular posee una digestibilidad casi total (McDonald et al., 2002), con variaciones en su degradabilidad ruminal según la especie forrajera de que se trate, y en líneas generales, según se trate de leguminosas o gramíneas (Van Soest, 1994). Dentro de la misma especie forrajera, estos contenidos varían según el estado de crecimiento y la época del año. En forrajes frescos de alta calidad, el consumo de CHS es importante, reflejándose en el pH, patrón de fermentación y concentración de los AGV (Ulyatt, 1981). Pasturas cortadas por la tarde presentan mayores concentraciones de CHS, debido a que la mayor actividad fotosintética ocurre en ese momento. Estudios realizados en nuestro país sobre pasturas

templadas señalan un incremento de CHS en horas de la tarde en relación a la mañana (Pérez et al., 2006), coincidiendo con el momento de mayor actividad fotosintética (Owens et al., 1999). Los AS solamente son abundantes por períodos cortos después de la ingestión de alimento y posteriormente actúan como metabolitos intermedios en la degradación de CH más complejos (Hungate, 1966), sufriendo una degradación inmediata por una gran variedad de poblaciones bacterianas. Al inicio de la digestión ruminal es necesaria la presencia de pequeñas cantidades de AS, debido a que las bacterias celulolíticas son incapaces de obtener E de la celulosa para su metabolismo hasta que las macromoléculas de las paredes vegetales sean digeridas (Elías, 1983).

El principal *CH de reserva* de los organismos vegetales, el *almidón*, es degradado eficientemente en el rumen por las bacterias amilolíticas, obteniéndose propionato como principal producto de su fermentación. Los granos de cereales contienen altas y variables cantidades de almidón (40-60%) (Obara et al., 1991), y por su alto valor energético y elevada palatabilidad, son materia prima de elección para cubrir las necesidades energéticas de los rumiantes en producción (de Blas et al., 1995). La digestión del almidón en los distintos granos es prácticamente completa, pero existen diferencias en cuanto a la proporción del almidón fermentado en el rumen y el digerido en tramos posteriores del aparato digestivo. El trigo y la cebada se caracterizan por una fermentación más rápida y completa en el rumen, que los granos de maíz y sorgo (de Blas et al., 1995). Herrera-Saldana et al. (1990) observaron *in vivo* e *in vitro* que la degradabilidad ruminal del almidón de diferentes cereales era, de mayor a menor: avena > trigo > cebada > maíz > sorgo. A su vez, mediante determinados tratamientos físicos y químicos se puede manipular la degradación ruminal del almidón, en la medida en que las estructuras responsables de la resistencia a la acción enzimática, puedan ser alteradas (Cheng et al., 1991).

Los concentrados energéticos estimulan menos la masticación que los alimentos fibrosos, lo que determina una menor producción de saliva, estando el líquido ruminal menos tamponado; a su vez, por su elevada y rápida fermentescibilidad producen gran cantidad de AGV (Orskov, 1992), lo que determina una disminución del pH ruminal, cambios en el patrón de fermentación y en el crecimiento microbiano; así como en la degradabilidad de la MO de la dieta (Russell y Wilson, 1996). Frente a esta situación, se observó que animales alimentados con dietas altas en concentrado, rumian más por unidad de fibra forrajera consumida, especialmente si los concentrados son rápidamente fermentescibles. Esto se puede explicar como un mecanismo de compensación para evitar descensos en el pH ruminal y en la celulolisis (Soita et al., 2000). La acidificación del pH ruminal ocurre, principalmente, como consecuencia de la acumulación de AGV y ácido láctico (Slyter, 1976; Goad et al., 1998; Owens et al., 1998), lo que puede afectar negativamente al metabolismo del rumen y del animal (Slyter, 1976; Owen et al., 1998; Sauvart et al., 1999), pudiendo ocasionar situaciones negativas para la salud del rumiante y su producción.

3.1.2. Compuestos Nitrogenados

Los aportes nitrogenados se deben clasificar, en primer lugar, en exógenos, procedentes del alimento, y endógenos, aportados por el propio rumiante. A partir de aquí, ambos se pueden diferenciar en proteicos y no proteicos. Los nutrientes contienen varios tipos de proteína y nitrógeno no proteico (NNP), que en conjunto constituyen la fracción analítica denominada *Proteína Bruta (PB)* o *Proteína Cruda (PC)*. A diferencia de especies monogástricas, las necesidades proteicas pueden ser



totalmente solventadas a partir del aporte de sustancias nitrogenadas simples y proteínas de baja calidad, convirtiéndolas en proteínas de composición relativamente constante con alto valor biológico para el animal (Orskov, 1992; Schingoethe, 1996; Dewhurst et al., 2000).

La PB tanto exógena como endógena, se puede clasificar en degradable y no degradable en el rumen. La degradable aporta péptidos, aminoácidos (aa) y amoníaco (NH_3) a los mo ruminales, y la no degradable, siempre que sea digestible, aporta péptidos y aa directamente al animal. El perfil y la calidad de aa que llega a duodeno es diferente del ofrecido en la ración, debido a la degradación ruminal de los aa dietarios y al aporte de proteína microbiana (PM) sintetizada a partir de la E derivada de los CH y de compuestos nitrogenados simples (Wallace y Cotta, 1988).

Mediante el proceso de degradación ruminal de las proteínas se obtienen péptidos y aa libres, que son rápidamente absorbidos por los mo para ser incorporados directamente a la síntesis proteica o para ser descarboxilados y desaminados produciendo AGV, dióxido de carbono y NH_3 (Owens y Zinn, 1988).

El nivel de degradación ruminal de las materias nitrogenadas de los alimentos y, en particular, los forrajes, está condicionado por la relación forraje:concentrado de la dieta (Van Soest, 1994; Forbes, 1986), la accesibilidad de los mo a la proteína, la velocidad de paso a través del retículo-rumen y el estado de madurez de la planta (NRC, 1985). El aumento de la pared celular que acompaña a la madurez del forraje limita el acceso de las proteasas al citoplasma, lugar donde se encuentra la mayoría de la proteína potencialmente degradable (Nocek y Grant, 1987). En dietas concentradas, la degradación proteica microbiana será menor, debido a un efecto directo de la disminución del pH sobre la población microbiana con actividad proteolítica (Erfe et al., 1982) y otro indirecto mediado por la disminución de la actividad fibrolítica (Orskov, 1992).

La proteína de los forrajes frescos es altamente degradable en rumen con un promedio del 75-85% para las distintas especies forrajeras (Elizalde et al., 1999). El contenido proteico de las pasturas templadas está relacionado directamente con la calidad de la pastura. En nuestro país el contenido de PB de las pasturas no suele ser limitante para el crecimiento microbiano, debido a los altos niveles y elevada degradabilidad proteica de las mismas (Repetto et al., 2005). Estudios realizados en nuestra región sobre praderas templadas muestran valores de PB que van de 14,4 a 19% (Rearte y Santini, 1989; Cajarville et al., 2000; Repetto et al., 2000; Pérez et al., 2006).

La cantidad de proteína degradable en rumen necesaria para obtener un máximo crecimiento de mo ruminales oscila entre 10-15% (en base seca) (Hoover y Stokes, 1991; Stern et al., 1994). Asimismo Hoover y Stokes (1991) sugieren que para no afectar la síntesis de PM el nivel de proteína degradable en rumen de la dieta debiera ser superior al 10-11 % (en base seca). Por otro lado, Owens y Zinn (1993) señalan que si el nivel de PB de la dieta es inferior a 13-15%, la PB que abandona el rumen supera generalmente a la aportada por la dieta, lo que ocurriría por un reciclaje mayor de urea hacia el rumen.

3.1.3. Sincronización entre aportes energéticos y nitrogenados

La síntesis microbiana en rumen depende tanto de la contribución de sustratos energéticos como nitrogenados. El aporte asincrónico de alguno ellos, generará una menor eficiencia de utilización de la E o del N disponible, dependiendo del nutriente aportado en exceso. Por tanto un desequilibrio en alguno de estos sustratos o en su velocidad de digestión puede afectar significativamente el

resultado de la fermentación ruminal (de Blas,1995). El objetivo final de la sincronización es suplir los nutrientes necesarios para cubrir las necesidades de los mo para su crecimiento en la proporción y tiempo adecuados. Los mo requieren la E, el NH₃ y/o los aa y péptidos en forma simultánea. Un aporte sincronizado de E fermentable y N degradable resulta en una mejor utilización de los nutrientes en el rumen y un mayor flujo de PM al duodeno (Herrera-Saldana et al 1990; Huntington, 1997; Dewhurst et al, 2000). Van Vuuren et al (1990) sugieren que para que la utilización del N de la pastura resulte óptima mediante la suplementación energética, los CH y el N deberían tener tasas de degradación ruminal similares. Estudios realizados en vacas lecheras sobre pasturas frescas y suplementadas con grano de maíz, mostraron modificaciones en la concentración de N-NH₃ y pH ruminal que indicarían que la sincronización energía-proteína a través de la suplementación produciría un aumento en la captación microbiana del N. Sin embargo los cambios fueron transitorios no observándose en el balance global del N en el animal ni en la performance lechera de los mismos (Kolver et al., 1998).

Henning et al. (1993) estudiaron en ovinos el efecto del grado de sincronización E-N sobre el ambiente ruminal y producción de PM. Con este fin realizaron una serie de tratamientos: pulsátil (cada 12 horas) y constante, alternando patrones de infusión intrarruminal de CHRF-N: constante-constante, constante-pulsátil, pulsátil-pulsátil, pulsátil-constante, manteniendo la misma cantidad de substratos en todos los tratamientos. La infusión constante de CHRF aumentó la eficacia de síntesis de PM, pero el nivel de sincronización E-N (pulsátil-pulsátil) no tuvo ningún efecto sobre la eficacia de síntesis o el aporte total de PM. Estos resultados indican que la disponibilidad constante de E es más importante para el crecimiento microbiano que la sincronización de la fermentabilidad de E-N, siempre y cuando el N no sea un factor limitante.

Los animales a pastoreo, sobretodo en zonas templadas, consumen forrajes que tienen un alto contenido en proteína degradable (150-300 g/kg MS) con tenor variable en CHRF (60-220 g/kg MS) que pueden limitar la eficiencia de utilización del N-NH₃ por parte de los mo ruminales (Sauvant et al, 1995; Elizalde et al, 1996; Berzaghi et al, 1996). La respuesta a la suplementación rica en E es variable y depende de factores como la fuente y forma de suplemento (melaza o granos, enteros o molidos) (Chamberlain et al., 1985; Orskov y Fraser, 1975); del nivel de ingesta tanto del suplemento como de la dieta basal (Mathers y Miller, 1981); y del tipo de alimento base (Obara et al., 1991; Hennessy et al., 1983; Egan y Ulyatt, 1980).

3.2. AMBIENTE RUMINAL

3.2.1. pH

El pH del rumen es un parámetro fisico-químico esencial en la digestión y la nutrición del rumiante (Sauvant et al., 1999; De Veth y Kolver, 2001). El mantenimiento del pH ruminal es el resultado de la producción y neutralización o eliminación de protones hacia el medio ruminal. De todos los factores existentes del ambiente ruminal, es el más susceptible de sufrir variación, siendo el tipo de dieta y el manejo alimentario el mayor determinante de todos los cambios (Calsamiglia et al., 2002). Mientras que las fermentaciones de CHRF son energéticamente más eficientes, son altamente acidogénicos, y su suministro debe limitarse con CHF, ya que éstos aportan una capacidad amortiguante al medio ruminal. Su estabilidad

dentro de valores normales, obedecerá principalmente a la regulación ejercida por los sistemas buffers ruminales.

El sistema del fosfato y del bicarbonato aportados mediante las secreciones salivares proporcionan la capacidad tampón principal al medio ruminal; mientras que el sistema de los AGV, actúa a pHs más bajos (Counotte et al., 1979). Hay que tener en cuenta que los alimentos en forma individual tienen una capacidad buffer determinada, y esta puede ser modificada cuando se suministran dietas compuestas por varios alimentos (Crawford et al., 1983). Cada sistema de alimentación genera un ambiente ruminal propio con su propia capacidad buffer, dependiendo ésta de las características de la dieta suministrada (Jasaitis et al., 1987; Wohlt et al., 1987).

No existe consenso entre investigadores a la hora de asignar un valor único de pH donde se optimiza el funcionamiento ruminal, aunque el rango es relativamente estrecho (Hoover et al., 1984; Shriver et al., 1986; Pitt et al., 1996; Russell 1998; Sauvart et al., 1999; Cardozo et al., 2001; De Veth y Kolver, 2001; Calsamiglia et al., 2002). Trabajos realizados sobre pasturas templadas indican que durante el día el pH ruminal presenta continuas fluctuaciones, que van desde menores de 5 a mayores de 7 (De Veth y Kolver, 2001; Pérez, 2006). La mayoría de las bacterias del rumen exhiben una óptima actividad y crecimiento cuando el pH ruminal alcanza valores entre 6-6,9 (Van Soest, 1994). Según Owens y Goetsch (1988) animales consumiendo dietas basadas en forrajes mantienen su pH ruminal entre 6,2-7. En trabajos realizados en nuestro país por Repetto et al. (2000) con pasturas de buena calidad y bajos niveles de suplementación, se obtuvieron valores de pH 6,54 en animales pastoreando pradera como único alimento y pH 6,24 en animales alimentados a base de pasturas y suplementados con una mezcla de cebada y maíz. No obstante, en otros ensayos realizados en nuestro país por Cajarville et al. (2000) en animales pastoreando gramíneas frescas con bajos niveles de suplementación, los valores medios de pH fueron inferiores, cercanos a 6,0. En numerosos estudios se ha observado una disminución en la degradación de la fibra cuando el pH desciende por debajo de 6, y se ha considerado este valor como el umbral crítico para la celulolisis (Mould et al., 1983; Hoover, 1986; Shriver et al., 1986; Russell y Wilson, 1996). Sin embargo, es más crítica la magnitud del descenso y el tiempo en que el pH se mantiene en valores subóptimos, que el pH medio diario (Itasse et al., 1986; De Veth y Kolver, 2001; Cerrato et al., 2005). Cuando el pH es inferior a 6,2, disminuye linealmente la síntesis de PM y la degradación de la fibra (Russell et al., 1992, Pitt et al., 1996), disminuyendo así la digestibilidad de la dieta. En cambio bacterias amilolíticas que fermentan CHRF persisten con pH entre 4,6- 4,9 (Russell y Dombrowski, 1980). La reducción de la celulolisis se atribuye a una baja tolerancia de las bacterias fibrolíticas a pHs reducidos, así como también a una preferencia de los mo por CHRF y competencia por nutrientes esenciales (Russell et al., 1983).

Descensos del pH ruminal suelen asociarse con baja degradabilidad proteica, debido a la disminución de cepas bacterianas capaces de degradar péptidos y desaminar aa (Erflé et al., 1982). A esto se le sumaría la menor actividad fibrolítica que determina una disminución en la proteólisis, ya que la fibra tiene que ser degradada para que las bacterias puedan acceder al sustrato, por esto la proteólisis se verá reducida indirectamente en las condiciones ruminales que conlleven a una disminución de la actividad fibrolítica (Ørskov, 1992).

3.2.2. Ácidos grasos volátiles

Los productos de la fermentación microbiana de los CH incluyen a los AGV, siendo el acetato, el propionato y el butirato los más importantes como proveedores

de E para los procesos metabólicos de los rumiantes (Voelker y Allen, 2003). La concentración ruminal de cada AGV está determinada por un equilibrio entre su tasa de producción y absorción. Con un pH próximo a 7 las tasas de absorción para todos los AGV son similares (Owens y Goetsch, 1988).

A pesar de las grandes oscilaciones en la población microbiana y de las diferencias en el consumo de alimentos, las proporciones entre AGV se mantienen notablemente estables con proporciones molares de acetato:propionato:butirato de 65:25:10 (en dietas a base de forraje) y 50:40:10 (en dietas ricas en concentrados) (Owens y Goetsch, 1988). Asimismo la concentración de AGV, así como la relación proporcional entre ellos, está determinada por la dieta, siendo la relación forraje:concentrado el parámetro más importante a tener en cuenta. Generalmente se produce un aumento en la producción de AGV cuando se suplementa con concentrados energéticos, debido al aporte extra de sustratos fermentables para los mo del rumen (Hsu et al., 1987). Sin embargo, existen estudios en los que no se constata este aumento (Krysl et al., 1989; Branine y Galyean, 1990; Opatpatanakit et al., 1993; Berzaghi et al., 1996).

En dietas a base de forrajes, ricas en celulosa, la producción de acetato resulta elevada; mientras que dietas ricas en almidón, producen mayores cantidades de propionato (Owens y Goetsch, 1988).

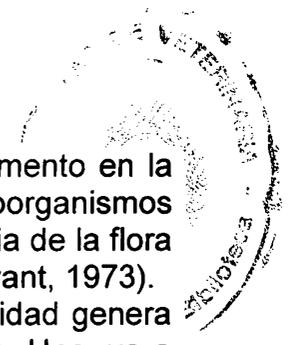
El descenso de pH ruminal está asociado a cambios en la producción de AGV, aumentando la proporción de ácido propiónico en detrimento del ácido acético, y favoreciendo la absorción de los mismos desde el rumen (Rearte y Santini, 1989). Bajo condiciones de pastoreo en zonas templadas, con un pH medio cercano a 6 se obtienen altas concentraciones de AGV, lo que no se sabe si se debe a una alta tasa de producción o a una baja tasa de absorción. La motilidad del rumen, bajo estas condiciones, podría afectar la difusión de AGV, provocando un aumento en la concentración de éstos. Un bajo pH ruminal puede determinar una disminución en la motilidad del órgano provocando un descenso en la velocidad de absorción de AGV (Voelker y Allen, 2003; Kristensen y Harmon, 2004).

Los valores citados de concentración de AGV de animales en pastoreo superan los 160 mM/l y son sustancialmente más altos que los obtenidos con dietas de alta concentración energética. En trabajos realizados sobre animales pastoreando praderas templadas de alta calidad se observó una importante proporción de ácido propiónico y butírico en el líquido ruminal (García Astrada y Santini, 1986), junto con una alta producción de AGV.

3.2.3. Nitrógeno Amoniacal

El N-NH₃ ha demostrado ser el principal nutriente nitrogenado necesario para el crecimiento de los mo ruminales y por consiguiente para la síntesis de PM (Joo et al., 2005). Surge de la degradación microbiana de proteínas, péptidos, aa y de sustancias nitrogenadas no proteicas, provenientes de la dieta o del metabolismo endógeno (Russell y Hespell, 1981). Los aportes endógenos son importantes *in vivo*, al hacer balances de nitrógeno (BN), porque el N duodenal puede ser más alto que el ingerido (Orskov, 1992).

En la mayoría de los casos, el N-NH₃ es el nexo de unión entre la degradación de la proteína dietaria y la síntesis microbiana. Su concentración ruminal es el resultado entre producción y utilización, lo que dificulta saber cuál es la concentración óptima; es decir, la concentración de N-NH₃ mínima para maximizar el crecimiento microbiano o la velocidad de fermentación del alimento, habiéndose encontrado valores entre 5 a 20 mg/dl (Satter y Slyter, 1974; Krebs y Leng, 1984;



Boniface et al., 1986); por encima de los cuales no se evidenciaría aumento en la producción de N microbiano. El N-NH₃ es utilizado por los microorganismos fibrolíticos como única fuente nitrogenada para su crecimiento a diferencia de la flora amilolítica que requiere de otros aportes de N para la síntesis de PM (Bryant, 1973).

La fermentación del N proveniente de pasturas frescas de alta calidad genera una rápida producción de N-NH₃ ruminal que tendrá diferentes destinos. Uno, va a ser la producción de PM; y otro, el exceso de N-NH₃, difundirá hacia la sangre para ser transformado en urea en el hígado. Tanto el NH₃ como la urea pueden retornar al rumen, a través de la saliva o de la pared ruminal para la síntesis de PM que luego será absorbida en el intestino delgado (Tebot et al., 2002). Puede ocurrir una importante pérdida de N pre-duodenal hasta 30% del N ingerido (Beever y Siddons, 1986) si no es posible reciclarlo y por lo tanto el N-NH₃ como la urea pueden ser eliminadas por orina. Trabajos realizados por Nicolic y Filipovic (1981) indican que si ocurre un descenso en la concentración de N-NH₃ ruminal, aumentaría el reciclaje de N dentro del pool ruminal retornando a valores adecuados para la actividad microbiana.

Trabajos realizados en nuestro país, con ruminantes pastoreando praderas implantadas de gramíneas y leguminosas, reflejan que las concentraciones ruminales de N-NH₃ son elevadas (promedialmente, 20,1 mg/dl) y, por lo tanto, no serían la limitante para el crecimiento microbiano (Repetto et al., 2001). El uso de una fuente de E fermentescible adicional ha sido propuesto como forma de incrementar la captura microbiana de NH₃ y mejorar la retención de N y por ende la producción de PM (Jetana et al., 2000; Elizalde et al., 1999; Caton y Dhuyvetter, 1997).

No obstante, la proporción de N-NH₃ ruminal puede modificarse al disminuir el pH, produciéndose una reducción en su concentración (Shriver et al., 1986). Mediante estudios *in vitro* se observó que a pH inferiores a 6 ocurre un descenso en la actividad de proteasas y desaminasas microbianas, expresándose en una disminución en la concentración de N-NH₃ (Erfle et al., 1982) y menor recuento de colonias proteolíticas.

3.3. DIGESTIBILIDAD

La calidad nutritiva de un alimento es una característica que se puede estimar mediante su composición química y su contenido energético, pero su utilización por parte del animal es siempre menor, debido a las pérdidas inevitables que ocurren durante la digestión, absorción y metabolismo¹(McDonald et al, 2002).²Para conocer la eficacia digestiva de un alimento se calcula el *Coefficiente de Digestibilidad (CD)*, el cual se define como la proporción de nutriente absorbido respecto al ingerido, es decir, la proporción de alimento que no es excretado con las heces y que se supone ha sido absorbido (Merchen, 1988). Los CD determinados de esta manera son digestibilidades aparentes que infravaloran la digestibilidad real o verdadera de un alimento (Merchen, 1988). Para determinar la digestibilidad se han empleado diversos métodos *in vivo*, *in vitro* e *in situ*. (McDonald et al, 2002).

Una reducción en la digestibilidad de la fibra sería responsable en gran parte de la disminución en la digestibilidad de la dieta.- Existe una alta correlación entre consumo y digestibilidad del forraje cuando los valores de digestibilidad se encuentran entre 60 y 80% (Hodgson, 1977). Con el avance de la madurez, los forrajes incrementan su contenido de lignina, lo cual ocasiona un mayor descenso de la degradabilidad de los elementos contenidos en la pared celular, lo que reduce la

disponibilidad energética para el animal hospedero (Van Soest y Wine, 1967; Parra et al., 1972; Minson, 1981). En el caso de pasturas de baja calidad, el contenido total del N del forraje no siempre resulta completamente utilizable a nivel digestivo, ya que parte de este N se encuentra incrustado en la pared celular indigestible (Pichard y Van Soest, 1977; Van Soest, 1982), lo que puede reducir el aprovechamiento del N ingerido. La digestibilidad de la fibra es función de su tasa de digestión dependiente de la actividad de los mo del rumen y del tiempo en que el material se encuentre expuesto a dicha acción, lo cual estará en relación inversa a la velocidad de pasaje por el rumen (Rearte y Santini, 1989). Con relación a esto cabe destacar la importancia del ambiente ruminal, ya que componentes químicos resultantes de este ambiente son los que afectan la digestión de la fibra. La adición de almidón o CHRF reducen la digestibilidad de la fibra a través de una disminución en el pH ruminal y una menor actividad de los mo celulolíticos (Mould y Orskov, 1984)

3.4. CARACTERIZACIÓN DEL PROBLEMA

En el estudio del ambiente ruminal en condiciones de pastoreo es necesario considerar tres factores particulares: el aporte continuo de substratos fermentescibles a la microflora ruminal (Ulyatt et al., 1975), la variación en la composición histo-química del forraje asociada al estado de madurez (Beever et al., 1985); y las variaciones estacionales que pueden producir un desacople entre E y fuentes nitrogenadas (Corbett y Pickering, 1983).

El proceso productivo en rumiantes en nuestra región es altamente dependiente del consumo voluntario del forraje y su digestibilidad, y aún existiendo disponibilidad de éste, el consumo puede estar limitado por su calidad, no alcanzándose los objetivos de producción al no satisfacerse las demandas nutricionales del animal. La situación se hace mucho más difícil cuando los requerimientos animales son muy altos y se hacen inalcanzables ante una baja oferta forrajera (Obispo et al, 2001).

En Uruguay los rumiantes son alimentados mayoritariamente en forma extensiva o semi intensiva, lo que hace que su dieta se base principalmente en el consumo de grandes cantidades de forrajes frescos. Las praderas implantadas de nuestro país proporcionan a los mo ruminales un substrato con elevadas fracciones de PB de alta degradación ruminal (Repetto et al, 2005), con niveles variables de CHRF.

Cuando la disponibilidad de pasturas es escasa, debido a las variaciones estacionales, anuales y al impacto producido por las condiciones climáticas adversas, que determinan diferencias en el potencial de producción de las pasturas, se utilizan concentrados ricos en E como suplemento energético. Esta suplementación determina un incremento en el suministro energético que conlleva a una mayor retención de N-NH₃ en el animal, que de no ser así sería eliminado, perdiéndose potencialidad para la síntesis de PM a nivel ruminal (Huntington, 1997).

Los estudios realizados sobre esta temática en ovinos en pastoreo son escasos y generalmente reducidos a corderos en crecimiento (Karnezos et al, 1994). En su mayoría los trabajos se refieren a bovinos consumiendo dos clases de forrajes (alta vs. baja calidad) o animales consumiendo gramíneas más que leguminosas (Galyean y Goestch, 1993; Paterson et al, 1994).

Las condiciones del ambiente ruminal: variaciones de pH, cambios en la degradabilidad y fluctuaciones en la producción de AGV y de N-NH₃ reflejan los procesos digestivos que influyen sobre la performance del animal. El estudio de estos parámetros intrarruminales, y de los cambios en la digestibilidad de los

nutrientes revelan las repercusiones de la suplementación energética así como los cambios observados según el concentrado utilizado.

4. PLANTEO DE HIPÓTESIS

La suplementación energética de rumiantes consumiendo pasturas frescas generará importantes cambios a nivel del ambiente ruminal y tracto digestivo que permitirán un mayor aprovechamiento de los nutrientes ingeridos.

La combinación de dos fuentes de CHNF (almidón y AS) como suplementos de una dieta a base de pasturas frescas, logrará la mejor sincronización entre E y PB lo que provocará una mejor utilización de los alimentos ingeridos.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la suplementación y del tipo de suplemento energético sobre la utilización digestiva de la dieta en ovinos alimentados con pasturas frescas.

5.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar el efecto de la suplementación y del tipo de suplemento suministrado sobre digestibilidad y BN de pasturas en estado vegetativo tardío.

- Evaluar el efecto de la suplementación y el tipo de suplemento suministrado sobre digestibilidad y BN de pasturas en estado vegetativo temprano.

- Evaluar el efecto de la suplementación y el tipo de suplemento suministrado sobre parámetros intrarruminales: pH y N-NH₃, de pasturas en estado vegetativo temprano.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de campo se llevó a cabo en el año 2005 durante los meses de agosto, setiembre y octubre en el campo experimental N° 2 (San José, Uruguay, 34° Sur, 55° Oeste) y los análisis de laboratorio se realizaron en el departamento de Nutrición Animal de Facultad de Veterinaria (Montevideo).

6.1. ANIMALES, DIETAS Y TRATAMIENTOS

Para la realización del diseño experimental se utilizaron 18 ovejas hembras Corriedale, no gestantes, no lactantes (43 ± 4 kg PV) con sondas vesicales y ruminales. Los animales se ubicaron durante el ensayo en un galpón cerrado al resguardo de las inclemencias climáticas y de factores externos que interfieran con la prueba; fueron alojadas en jaulas metabólicas individuales, con libre acceso al agua, durante todo el ensayo experimental. El cuidado y manejo de todos los animales experimentales, incluyendo la canulación vesical y ruminal, fueron dirigidos

bajo protocolos aprobados por la Comisión de Vigilancia de la Ética en Experimentación Animal de Facultad de Veterinaria, UdelaR.

La dieta base administrada a los animales consistió en forraje de pradera templada implantada, 90% de gramíneas (*Avena sativa*) y el resto consistió en materia muerta (cama) y trébol blanco (*Trifolium repens*); en dos estadios vegetativos diferentes: *tardío* y *temprano*. Su composición química al inicio del experimento se describe en la Tabla I. La suplementación se realizó con grano de cebada (*Hordeum vulgare*) quebrado y melaza deshidratada (derivada de caña de azúcar: Kalori 3000[®], KK Animal Nutrition Pty Ltd., South Africa), cuya composición química se muestra en la Tabla I.

Tabla I. Disponibilidad de la pastura y composición química de los alimentos ofrecidos durante el trabajo experimental.

	Disponibilidad Kg MS/há	%MS	%MO*	%cenizas*	%FDN*	%FAD*	%PB*	%AS*
Pastura I	6240	15,90	88,97	11,30	55,45	29,63	11,62	4,70
Pastura II	3040	14,81	87,71	12,29	54,62	27,87	14,86	8,17
Cebada	-	92,41	96,82	3,18	16,11	6,01	8,74	5,30
Melaza**	-	97,02	62,67	37,33	0,86	0,05	8,53	25,00***

*Pastura I: estadio vegetativo tardío, Pastura II: estadio vegetativo temprano. *: Valores expresados en base materia seca. **: Kalori 3000[®] (46,9% melaza de caña de azúcar + 46,9% de condensados de melaza solubles + 6,3% hidróxido de calcio). ***: Dato proporcionado por el fabricante.*

El consumo se restringió a niveles de mantenimiento de 40 g de MS/kg PV^{0,75}. La suplementación energética fue de 30 % de la MS del total de alimento ofrecido por día, el porcentaje de grano fue del 15 o 30 % de la MS, dependiendo del grupo, y la cantidad de melaza fue del 15% de la MS:

Tratamiento	Forraje	Cebada	Melaza
F <i>forraje</i>	100 %	-	-
FG <i>forraje+cebada</i>	70 %	30 %	-
FGM <i>forraje+cebada+ melaza</i>	70 %	15 %	15 %

Los animales fueron distribuidos al azar en tres grupos y se sometieron a tres tratamientos diferentes: *F* (solo forraje), *FG* (forraje y grano) y *FGM* (forraje, grano y melaza) (Tabla II), permaneciendo cada animal en el mismo grupo a lo largo de todo el ensayo experimental, el cual consistió en dos períodos, según el estadio vegetativo de la pastura: estadio vegetativo tardío (*período I*) y estadio vegetativo temprano (*período II*).



Tabla II. Cantidad y composición química de cada dieta ofrecida durante el trabajo experimental.

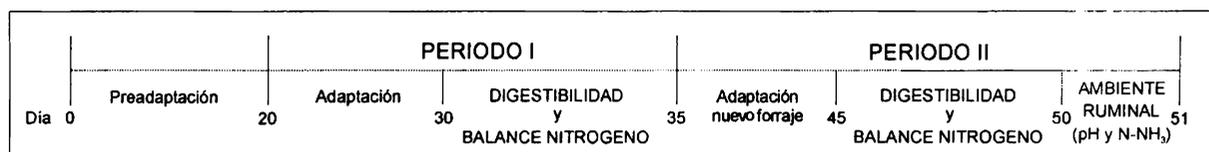
	Grupo	g MS	% MO*	%PB*	%CHNF* **	% FND*	%FAD*
PI	F	712,24	88,97	11,62	19,20	55,45	29,63
	FG	718,28	91,32	10,76	34,46	43,65	22,55
	FGM	721,64	86,20	10,73	31,93	41,36	21,65
PII	F	751,73	87,71	14,86	15,53	54,62	27,87
	FG	748,64	90,44	13,03	31,89	43,07	21,31
	FGM	736,88	85,32	12,99	29,36	40,78	20,42

PI: período I, P II: período II, F: forraje, FG: forraje + cebada, FGM: forraje + cebada + melaza.

*: Valores expresados en base MS. **: %CHNF= %MO - (%PB + %FND + %extracto etéreo***).

***: Valor teórico.

La pastura ofrecida fue cortada diariamente por las mañanas y proporcionada en cuatro comidas diarias: a las 9:00, 13:00, 18:00 y 23:00 h, luego de ser pesada, distribuyéndose según el régimen alimenticio establecido. Con la primera y tercera ingesta de forraje se adicionó el concentrado energético, según el nivel establecido en aquellos animales sometidos a suplementación.



En el *Período I (PI)* se midieron los Coeficientes de Digestibilidad para: MS, MO, PB, FND, FAD y Balance Nitrogenado.

En el *Período II (PII)* se midieron los mismos Coeficientes de Digestibilidad que en el PI para: MS, MO, PB, FND y FAD, Balance Nitrogenado, pH ruminal y N-NH₃ ruminal.

Previo a los ensayos experimentales se realizó un período de preadaptación de los animales durante 20 días, con el objeto de acostumbrarlos a las condiciones de alojamiento y al manejo realizado durante el experimento. Antes de cada ensayo (PI y PII), se realizó un período de adaptación, sometiendo a los animales a las dietas experimentales durante 10 días. Luego, se llevó a cabo la toma de muestras para digestibilidad y balance nitrogenado durante 5 días para cada período.

Al término del segundo período, durante 24 horas se extrajeron muestras de líquido ruminal, para el estudio del ambiente ruminal.

6.2. RECOLECCIÓN, ANÁLISIS Y CÁLCULOS REALIZADOS

6.2.1. Colección de muestras

Antes de ofrecer la primera comida de cada día, se pesó y se registró la cantidad de alimento rechazado del ofrecido el día anterior (cuando el rechazo \geq 10% del alimento ofrecido), para medir el consumo individual, tomándose muestras representativas que se almacenaron a -20°C para posteriores análisis de composición química, digestibilidad y BN. Con el mismo fin, se tomaron y se almacenaron a -20°C muestras representativas del alimento ofrecido a diario y se pesó el total de heces excretadas diariamente, recolectándose muestras representativas del 10% del total. Para el estudio del BN se midió el volumen de orina emitido diariamente por animal (diuresis) y se extrajo una alícuota que se almacenó a -20°C .

Para el análisis de pH ruminal y N-NH_3 , al término del segundo período, se extrajeron por intermedio de sondas intrarruminales (provistas de tamiz), muestras individuales de líquido ruminal, 30 ml aproximadamente, de cada animal, cada hora, durante 24 horas. Los valores de pH ruminal se obtuvieron en forma inmediata a la extracción de las muestras utilizando un pHmetro portátil. Para análisis de N-NH_3 se tomó una alícuota de 10 ml de líquido ruminal más 10 ml de NaCl al 20% como conservante y se congeló a -18°C hasta su procesamiento.

6.2.2. Composición química de la pastura, heces y orina

Las ofertas y los rechazos del alimento y de las heces fueron tratadas para la determinación de MS, por medio de secado a 65°C , hasta lograr un peso constante. Para la realización de análisis de laboratorio las muestras, tanto de alimento (forraje y grano) como las heces, fueron molidas hasta un tamaño menor de 1 mm. Posteriormente, se realizaron pools de forraje, heces y orina para cada oveja por período.

Para cada pool de forraje y heces, así como para grano y melaza, se efectuaron análisis de Cenizas-MO, PB, FND y FAD. Los contenidos de MS, MO y PB fueron analizadas según A.O.A.C. (1984), y las determinaciones de FND y FAD se efectuaron de acuerdo con la técnica descrita por Goering y Van Soest (1970). Además, se analizó el contenido de AS de la pastura y de la cebada, según la técnica descrita por Yemm y Willis (1954). Para cada pool de orina se determinó el contenido de N mediante el Método de Kjeldahl según A.O.A.C (1984).

Todas las muestras fueron realizadas por duplicado o triplicado según el parámetro estudiado, admitiendo coeficientes de variación de hasta 5 %.

6.2.3. Digestibilidad y Balance Nitrogenado

Mediante los datos obtenidos de la composición química del alimento y las heces, se calcularon los *Coefficientes de Digestibilidad* para: MS, MO, PB, FND y FAD, de la siguiente manera:

$$\text{CD MS} = \frac{\text{gMS de alimento consumido} - \text{gMS excretado en heces}}{\text{gMS de alimento consumido}}$$

Aplicándose la misma fórmula para todos los CD estudiados.

Para el cálculo del *Balance Nitrogenado* se tomó en cuenta el contenido de N del alimento, y la cantidad de N excretada en la materia fecal y en la orina; calculándose de la siguiente forma:

BN = ingesta de N - (excreción de N en heces + excreción de N en orina)

6.2.4. Ambiente ruminal

El valor de *pH ruminal* se tomó de forma inmediata a la extracción de cada muestra utilizando un pHmetro digital.

La concentración de *N-NH₃ ruminal* se midió por destilación directa, con tetraborato de sodio por el método de Kjeldhal.

6.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los parámetros ruminales pH y N-NH₃ se analizaron como medidas repetidas, usando un modelo mixto (PROC MIXED DE SAS®) incluyendo los efectos tratamiento, hora y la interacción tratamiento x hora. Los resultados de la digestibilidad de MS, MO, PB, FAD y FND, al igual que el BN, se compararon entre tratamientos para cada uno de los períodos y para ambos períodos conjuntamente, utilizando contrastes ortogonales; separando los efectos de la suplementación y del tipo de suplemento utilizado. Cuando se realizaron los contrastes para ambos períodos se consideró el efecto período.

7. RESULTADOS

En la Tabla III se representan los distintos coeficientes de digestibilidad medios para los tres tratamientos realizados durante el período I, de estado vegetativo tardío. La digestibilidad de la MS y de la MO fue mayor para los grupos suplementados en relación al grupo que consumió sólo pastura. Sin embargo, no se encontraron diferencias entre el grupo suplementado con grano y aquel suplementado con grano y melaza. En cuanto a la digestibilidad de la PB, se observaron diferencias (P=0,013) sólo entre ambos grupos suplementados a favor del grupo FG, no siendo así entre los suplementados y el no suplementado. Con respecto a la digestibilidad de la FND y la FAD, no se observaron diferencias significativas para ningún caso.

Tabla III. Coeficientes de Digestibilidad de MS, MO, PB, FND, FAD para el período I (forraje fresco en estado vegetativo tardío).

	F	FG	FGM	ESM	P	
					F vs (FG y FGM)	FG vs FGM
DMS	0,67	0,72	0,71	0,011	0,010	ns
DMO	0,68	0,74	0,72	0,010	0,006	ns
DPB	0,71	0,72	0,68	0,010	ns	0,013
DFND	0,66	0,61	0,64	0,021	ns	ns
DFAD	0,58	0,55	0,57	0,025	ns	ns

F: forraje, FG: forraje-cebada, FGM: forraje-cebada-melaza, ESM: error estándar de las medidas, P: probabilidad estadística, ns: no significativo (P<0,05).

En la Tabla IV se representan los distintos CD durante el período II, en estado vegetativo temprano. La digestibilidad de MS fue mayor para los grupos suplementados con respecto al no suplementado. Entre los grupos suplementados, la digestibilidad de MS y MO fue mayor para FG en relación al grupo FGM. No se observaron diferencias para la digestibilidad de la PB, ni para la digestibilidad de la FAD. Sin embargo, la digestibilidad de la FND fue mayor para el grupo que consumió únicamente pastura.

Tabla IV. Coeficientes de Digestibilidad de MS, MO, PB, FND, FAD para el período II (forraje fresco en estado vegetativo temprano).

	F	FG	FGM	ESM	P	
					F vs (FG y FGM)	FG vs FGM
DMS	0,71	0,75	0,71	0,012	0,001	0,006
DMO	0,75	0,79	0,75	0,011	ns	0,027
DPB	0,74	0,74	0,73	0,015	ns	ns
DFND	0,73	0,68	0,66	0,018	0,020	ns
DFAD	0,61	0,60	0,56	0,020	ns	ns

F: forraje, FG: forraje-cebada, FGM: forraje-cebada-melaza, ESM: error estándar de las medidas, P: probabilidad estadística, ns: no significativo ($P < 0,05$).

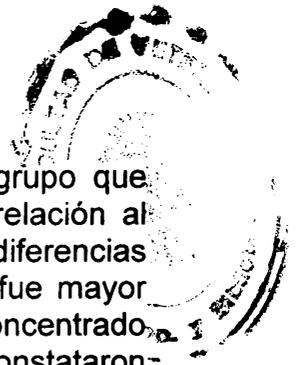
En la Tabla V se observa que la digestibilidad de la MS y la MO fue mayor para los grupos suplementados con respecto al grupo F. Entre los suplementados la digestibilidad de la MS fue mayor para el grupo suplementado con grano en relación al suplementado con grano y melaza. Para la digestibilidad de la PB y para la digestibilidad de la FAD no se ven diferencias entre los tres grupos. Sin embargo, la digestibilidad de la FND fue mayor para el grupo que consumió sólo forraje.

Tabla V. Coeficientes de Digestibilidad de MS, MO, PB, FND, FAD para ambos períodos en conjunto (estado vegetativo tardío & temprano).

	F	FG	FGM	ESM	P	
					F vs (FG y FGM)	FG vs FGM
DMS	0,69	0,74	0,71	0,013	0,016	0,037
DMO	0,72	0,77	0,74	0,015	0,029	ns
DPB	0,73	0,73	0,70	0,014	ns	ns
DFND	0,70	0,65	0,65	0,022	0,025	ns
DFAD	0,60	0,57	0,57	0,023	ns	ns

F: forraje, FG: forraje-cebada, FGM: forraje-cebada-melaza, ESM: error estándar de las medidas, P: probabilidad estadística, ns: no significativo ($P < 0,05$).

La Tabla VI representa los valores referidos a la retención de N por día, expresado en gramos y en porcentaje de la ingesta de N, correspondiente a los dos



períodos. En el período I la retención de N (g/d) fue mayor para el grupo que consumió únicamente forraje; pero no se encontraron diferencias con relación al suplemento utilizado. En el periodo II la retención de N (g/d) no presentó diferencias entre grupos. Para ambos períodos en conjunto la retención de N (g/d) fue mayor para el grupo F; pero no se observaron diferencias entre el tipo de concentrado utilizado. En cuanto a los valores de BN expresado en porcentaje, no se constataron diferencias significativas entre los tratamientos en ningún período.

Tabla VI. Retención de Nitrógeno en período I, II y ambos períodos en conjunto.

		F	FG	FGM	ESM	P	
						F vs (FG y FGM)	FG vs FGM
PI	g/d BN	2,55	1,38	1,98	0,292	0,042	ns
	% BN	20,00	11,67	16,18	2,311	ns	ns
PII	g/d BN	2,28	1,23	1,10	0,596	ns	ns
	% BN	14,43	8,18	5,17	4,832	ns	ns
PI & PII	g/d BN	2,40	1,30	1,54	0,471	0,027	ns
	% BN	16,96	9,78	10,67	4,016	ns	ns

F: forraje, FG: forraje-cebada, FGM: forraje-cebada-melaza; PI: período I; PII: período II; PI&PII: ambos períodos en conjunto; g/d BN: gramos de N retenidos por día; % BN: porcentaje de N retenido respecto al N ingerido, ESM: error estándar de las medidas, P: probabilidad estadística, ns: no significativo ($P < 0,05$).

Los valores de pH ruminal para cada tratamiento en este trabajo oscilaron entre: 6,067 - 6,592 (grupo F), 5,920 - 6,527 (grupo FG) y 6,240 - 6,750 (grupo FGM). Los pH medios obtenidos, representados en la Tabla VII, marcan diferencias entre tratamientos ($P < 0,001$), y para las distintas horas de cada grupo ($P < 0,001$). Sin embargo, la interacción $t \times h$ entre tratamientos no fue significativa, tal como se observa en la Tabla VII y en la Figura 1, la que describe curvas de pH diario con tendencias similares para los tres tratamientos. El pH medio de los animales suplementados con grano fue inferior al de los no suplementados (6,15 vs 6,33); en cambio, el pH medio fue mayor (6,51) en el grupo que recibió melaza y grano como suplemento, que en los tratamientos restantes.

Tabla VII. Valores medios de pH ruminal en el período II.

	F	FG	FGM	ES	t	P h	t x h
PH	6,33 ^b	6,15 ^c	6,51 ^a	0,0354	<0,001	<0,001	ns

F: forraje, FG: forraje + cebada, FGM: forraje + cebada + melaza, ES: error estándar, P: probabilidad estadística, t: efecto tratamiento, h: efecto hora, $t \times h$: interacción entre tratamiento y hora, ns: no significativo. Distintos superíndices en columnas indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

En la Figura 1 se aprecia una disminución de los valores de pH ruminal en todos los grupos posterior a la ingesta, y para el grupo FG, esta reducción es más evidente luego de las horas de administración del suplemento (a las 9 y a las 18 h). Sin embargo en el grupo FGM se observó un aumento del valor de pH a la hora post

ingesta del suplemento de la mañana y luego un descenso. Los valores mínimos de pH se registraron entre 1 y 4 horas posteriores al suministro de alimento, para todos los tratamientos, siendo el más bajo para el grupo FG (5,92) a las 4 horas post ingesta (22 h). En cambio para el grupo F el pH mínimo se registró a la hora 24 (1 h post ingesta) con un valor de 6,07. El grupo FGM tuvo su mínimo de pH de 6,24 a las 2 a.m, siendo 3 horas post ingesta de forraje únicamente.

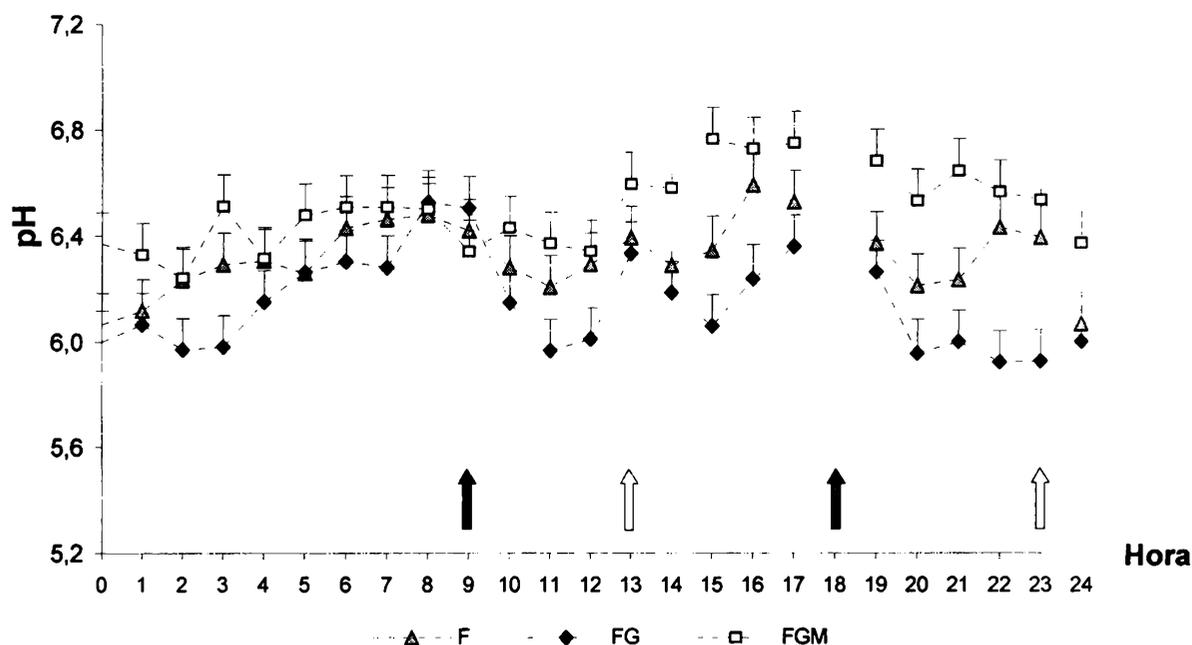


Figura 1. Valores medios de pH ruminal en ovinos consumiendo forraje (F), forraje-grano (FG) y forraje-grano-melaza (FGM), en función del horario de extracción. Las flechas indican el horario de suministro del alimento: forraje, forraje + suplemento energético. Medias \pm error estándar (ES).

Las concentraciones de $N-NH_3$ para cada tratamiento oscilaron entre: 13,220 - 26,193 (grupo F), 13,508 - 26,623 (grupo FG) y 13,055 - 32,310 (grupo FGM).

Tabla VIII. Valores medios de concentración de $N-NH_3$ en líquido ruminal en el período II.

	F	FG	FGM	ES	t	P h	t x h
$N-NH_3$(mg/dl)	17,44	18,55	18,03	0,8753	ns	ns	<0,001

F: forraje, FG: forraje + cebada, FGM: forraje + cebada + melaza, ES: error estándar, P: probabilidad estadística, t: efecto tratamiento, h: efecto hora, t x h: interacción entre tratamiento y hora, ns: no significativo ($P < 0,05$).

En cuanto a los valores medios de concentración de $N-NH_3$ en el líquido ruminal de los animales, representados en la Tabla VIII, no se observan diferencias entre tratamientos ni entre las distintas horas de muestreo para un mismo tratamiento. Como se observa en la Tabla VIII se registraron variaciones significativas ($P < 0,001$) entre concentraciones de $N-NH_3$ para los diferentes grupos respecto a la misma hora del día (t x h). La evolución diaria de la concentración de

N-NH₃ tuvo un patrón de comportamiento diferente entre tratamientos, tal como observa en la Figura 2.

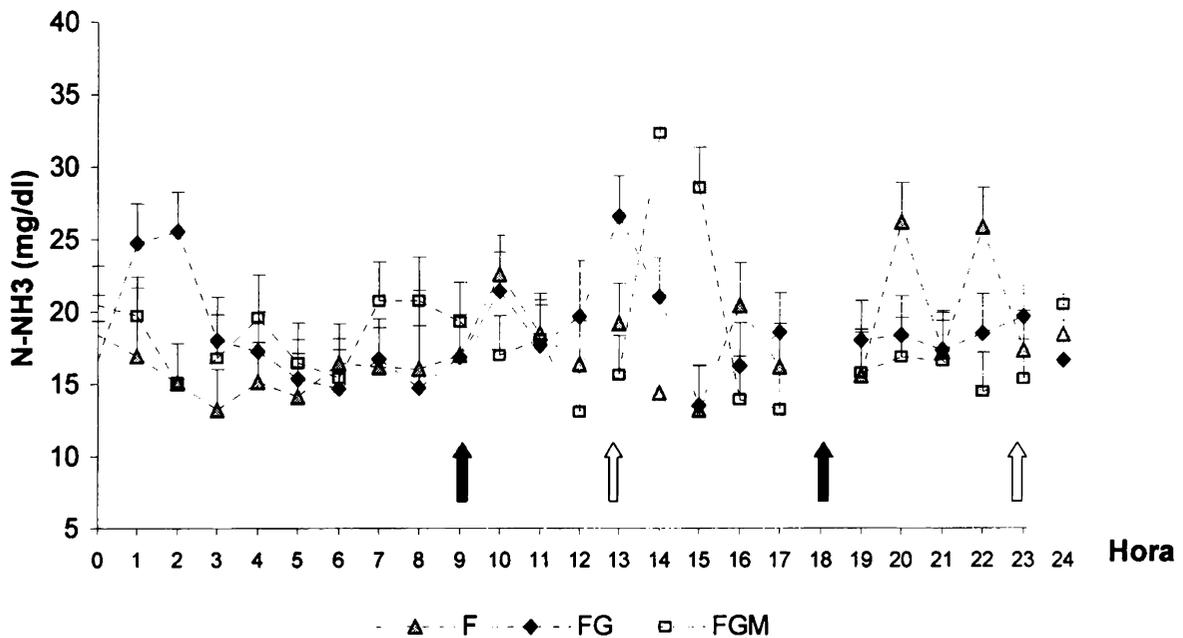


Figura 2. Valores medios de concentración de N-NH₃ ruminal en ovinos consumiendo forraje (F), forraje-grano (FG) y forraje-grano-melaza (FGM), en función del horario de extracción. Las flechas indican el horario de suministro del alimento: ▽ forraje, ↑ forraje + suplemento energético. Medias ± error estándar (ES).

8. DISCUSIÓN

La digestibilidad de la MS y de la MO para el Período II, de estadio vegetativo temprano, tuvo valores más altos que los observados en el Período I, de pasturas de madurez más avanzada (Tablas III y IV). Esto es razonable, ya que cuánto más avanzada sea la madurez de la planta, el ataque por los mo ruminales será más dificultoso, debido a un mayor contenido en paredes celulares y un aumento de la lignificación lo que lleva a una disminución en la degradación de la fibra (Demarquilly y Andrieu, 1990; Hoffman et al., 1993; Jung y Allen, 1995). Con el uso de la suplementación energética durante el período I, madurez más avanzada, se observó una mejora de 6,7% y de 7,4% en la DMS y la DMO, respectivamente, por encima de la digestibilidad obtenida en el tratamiento sólo pastura; no encontrando diferencias entre los distintos suplementos (Tabla III). Durante el Período II, donde los animales consumían pasturas en estadios tempranos, con el uso de suplementos energéticos se registró una mejora de sólo un 2,8% en la DMS sobre la del tratamiento sólo pastura. A su vez, entre los distintos suplementos energéticos utilizados, la DMS y la DMO en los animales suplementados con grano superó en un 5,6% y en un 5,3%, respectivamente, a los suplementados con grano-melaza (Tabla IV). Por lo tanto, al ofrecer un forraje de mayor calidad, la digestibilidad de la MS y MO fue eficiente para todos los tratamientos, pero resultados más altos se obtuvieron cuando se utilizó sólo grano como suplemento energético.

Se observó una disminución de la digestibilidad de la FND (DFND) con la adición de suplementos energéticos (Tablas IV y V). Esto, sumado a las disminuciones de pH ruminal, registradas en el grupo suplementado con grano y coincidiendo con lo obtenido por otros autores (Hoffman et al., 1993; Berzaghi et al.,

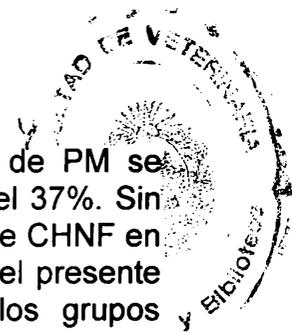
1996; Caton y Dhuyvetter, 1997) podrían vincularse a una menor actividad celulolítica. Sin embargo, para determinar con precisión una menor fermentación de la fibra con la adición de suplementos, sería necesaria una medición más precisa de degradabilidad y cinéticas de degradación utilizando otros métodos (*in vitro* o *in situ*). En el presente trabajo, la disminución de la digestibilidad total de la FND fue del orden del 8% al utilizar suplementos, lo que se aleja bastante de lo encontrado por Staples (1984) que al suplementar con granos y con pHs cercanos a 6, obtuvo una reducción de la digestión de la celulosa de 20 a 55% con respecto al grupo testigo no suplementado.

Si bien la suplementación induce a una disminución en DFND se observan aumentos en la DMS y DMO, para PI y PI&PII, atribuibles al ingreso de substratos rápidamente disponibles para la masa microbiana ruminal en concordancia con lo expresado por Obara et al. (1991), así como una preferencia de los mo ruminales por CHRf (Russell et al., 1983).

En referencia a lo antes expresado, Elizalde et al. (1999) en estudios en novillos alimentados con forrajes de buena calidad con distintos niveles de suplementación con grano, observaron un aumento lineal, con relación al nivel de suplementación, de 71,2 a 76,2 % DMO, sin encontrar diferencias en la digestibilidad de la FND. Bach et al. (1999), en trabajos *in vitro*, registraron aumentos en la DMS y en la DMO, y una disminución de la DFND, con el agregado de suplementos energéticos a dietas basadas en pasturas de buena calidad. Brown (1990) observó que en animales alimentados con pasturas y suplementados con 25% de melaza la DFND disminuyó un 5%, mientras que la DMO se incrementó un 5,7%. Sin embargo, Berzaghi et al. (1996), demostraron que la suplementación energética con grano de maíz quebrado provoca una disminución de la DMO en vacas lecheras alimentadas a base de pasturas frescas de buena calidad, disminuyendo también la DFND.

Con respecto al BN se observó que el grupo F retuvo más N (g/d) que los grupos sometidos a suplementación energética para el Período I y para ambos considerados en conjunto (Tabla VI). Esto podría estar indicando una mayor utilización microbiana del N ingerido en este grupo y un posible aumento en la síntesis de PM. Sin embargo, deberían tenerse en cuenta otras vías de utilización de este N retenido diferentes a la síntesis de PM, no medidas en este trabajo, como ser la síntesis de aa sulfurados a nivel hepático para producción de lana o la utilización de la proteína ingerida como fuente de E por los mo del rumen o por el animal. (Owens y Zinn, 1988).

Si bien los datos con respecto al N mo del presente ensayo forman parte de otro trabajo de tesis de grado, resulta conveniente mencionar los resultados obtenidos (Echaidés y Secchi, 2006, comunicación personal). Se observó que para todos los grupos la mayor producción de N mo se logró en el segundo período. Al comparar los diferentes tratamientos realizados, se observó que en el grupo que consumió sólo forraje la producción de N mo fue mayor que para los grupos suplementados. Esto, sumado a los datos obtenidos de N-NH₃ ruminal y BN, indicaría que los animales que consumieron únicamente pasturas lograron una mejor utilización del N, y posiblemente una sincronización energía-proteína más eficiente. Esto está de acuerdo con los resultados obtenidos por Henning et al. (1993) y que sostienen que la disponibilidad constante de E es más importante para el crecimiento microbiano que la sincronización de la fermentabilidad E-N, siempre y cuando el N no sea un factor limitante.



Hoover y Stokes (1991) sugirieron que la eficiencia de síntesis de PM se optimiza cuando el contenido de CHNF de las dietas está por encima del 37%. Sin embargo Feng et al. (1993) encontraron que un aumento del 29 al 39% de CHNF en la dieta produjo una disminución en la eficiencia de síntesis de PM. En el presente trabajo, con valores aproximados de CHNF entre 29 a 35% en los grupos suplementados resultó en una menor retención de N (g/d); lo que podría indicar que la suplementación energética no resultó en mayor síntesis de PM en relación al grupo control no suplementado, con un contenido de CHNF de aproximadamente 19%. Ello podría atribuirse a que el aumento de CHNF de la dieta no resultó en un incremento en la cantidad de E fermentada, o bien a la desincronización entre la fermentabilidad de la E y del N para el crecimiento microbiano (Robinson et al., 1987; Cameron et al., 1991). Se observó que en dietas con 39% de CHNF disminuye la velocidad de tránsito del contenido ruminal, pudiendo resultar en un incremento en el reciclaje de cuerpos bacterianos, por lo que el gasto energético y de N se desviaría para mantenimiento en lugar de para crecimiento (Feng et al., 1993). Otro aspecto a considerar serían las diferencias existentes entre aquellos compuestos incluidos dentro del término CHNF, debido a las grandes variaciones entre las proporciones de sacarosa, almidones y pectinas de los alimentos, lo que indicaría que un aumento de CHNF de la dieta no necesariamente se traduce en una mejor síntesis de PM (Stern et al., 1994).

Los valores promedio de pH ruminal obtenidos en este trabajo para el grupo F (Tabla VII), se encontraron dentro del rango óptimo esperado de 6,2-7 para rumiantes consumiendo dietas basadas en forraje (Owens y Goetsch, 1988). Dichos valores coinciden con los obtenidos en otros estudios con rumiantes a pastoreo (Abarca et al., 1999; Cajarville et al., 2006). El pH medio obtenido para animales consumiendo pasturas y suplementados con grano fue de 6,15; siendo significativamente menor al obtenido para el que consumió sólo pasturas que fue 6,33, en concordancia con la mayoría de los ensayos realizados por otros autores que utilizaron suplementación con grano de maíz y/o cebada (Staples et al., 1984, Berzaghi et al., 1996; Repetto et al., 2000). A su vez, este valor de pH se encuentra dentro del rango normal indicado por Owens y Goetsch (1988) para animales consumiendo concentrados energéticos (5,85 a 6,66). En el grupo FGM, si bien el pH se mantuvo dentro de valores normales adecuados para la actividad microbiana, fue mayor al esperado (pH medio de 6,51), obteniéndose valores significativamente superiores al resto de los grupos, no coincidiendo con los datos publicados de animales alimentados con forrajes y suplementados con melazas o azúcares (Chamberlain et al., 1993; Broderick et al., 2004). Esto podría deberse al proceso de elaboración del producto utilizado en este trabajo como fuente de azúcares (Kalori 3000®), que lleva como ingrediente Hidróxido de Calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), y que podría actuar como buffer o alcalinizar el medio ruminal. El hidróxido de calcio al 20% ha sido utilizado como tratamiento de la acidosis ruminal aguda en bovinos (Renner et al., 1991), así como en el proceso de deshidratación de la pulpa de cítricos para aumentar el pH y facilitar su procesado (Calsamiglia et al., 2004).

En cuanto a la evolución diaria del pH ruminal (Figura 1), no se observaron descensos importantes luego del suministro del alimento, lo que podría atribuirse al régimen alimenticio utilizado, que consistió en cuatro comidas diarias, y que se asemejaría más a un régimen de alimentación continuo en donde las fluctuaciones de pH son poco notorias (Pérez et al., 1997; Cajarville et al., 2006). En trabajos realizados en nuestro país con pasturas de composición similar a la suministrada en

el presente ensayo y en el cual los animales fueron alimentados una vez al día durante 4 horas, se observaron descensos evidentes posteriores a la ingesta (Pérez et al., 2006).

Los valores menores de pH ruminal se registraron, para todos los grupos, en horas posteriores al suministro del alimento, siendo aún más evidentes para el grupo suplementado con grano, lo que se debería a su alta y rápida fermentescibilidad a nivel ruminal, con alta producción de AGV, como establecen diversos autores (Marshall et al., 1992; Voelker y Allen, 2003). Esta disminución del pH se observó dentro de las primeras 4 horas luego del suministro del alimento (Figura 1), siendo significativo este descenso en el grupo que consumió forraje y el que consumió forraje y grano, cuando el suplemento se administró por la tarde. Para el grupo FG, en ambos momentos de suplementación, se observan disminuciones significativas del pH ruminal a partir de la hora de la ingesta y durante las siguientes 3 a 4 horas, lo que se ajustaría con los datos esperados y que son confirmados por gran parte de la bibliografía (Marshall et al., 1992; Caton y Dhuyvetter, 1997; Voelker y Allen, 2003; Cajarville et al., 2006). Para el grupo F, los valores más bajos de pH ruminal se obtuvieron también en horas posteriores al consumo de la pastura. Otros autores (Nápoli y Santini, 1987; Rearte y Santini, 1989) destacaron la similitud que existe entre los parámetros ruminales de animales pastoreando praderas de buena calidad con los de animales suplementados.

Se observa que, en aquellas horas más distantes del suministro del alimento, los tres grupos tienden a igualarse a mayores niveles de pH, con valores que van de 6,4 a 6,6. Esto se debería a la absorción de AGV producidos, acompañada de una disminución en su síntesis, y a la rumia que ocurre generalmente en los animales en horarios previos a la administración del alimento con el consiguiente incremento de sustancias tampón. Esto también fue observado en trabajos realizados en nuestro país por Cajarville et al (2000) en bovinos alimentados con forraje y suplementados con trigo y maíz.

Para el caso del grupo que consumió melaza y grano como suplemento, el pH no baja enseguida (en la primer hora) e incluso se detectaron aumentos (Figura 1), lo que ratificaría la acción buffer o alcalinizante de la melaza utilizada en este trabajo. En estudios realizados en el INTA Balcarce, utilizando bicarbonato de sodio como buffer, se observa que su adición no provoca grandes cambios en el ambiente ruminal de animales pastoreando praderas templadas. Frente a esto se constató un leve aumento de pH ruminal después de su consumo, produciéndose una disminución del mismo en horas inmediatas (Rearte y Santini, 1989).

De acuerdo con Kaufmann et al. (1980) y Van Soest (1994) los valores críticos para el mantenimiento de la actividad celulolítica se ubicarían en torno a mínimos de 6,0 - 6,2, lo que indica que en el grupo suplementado sólo con grano esta actividad podría verse comprometida en algún momento. Los valores medios menores a 6 se observaron únicamente para el grupo que consumió grano como suplemento a las horas 22 y 23; 4 y 5 horas posteriores al suministro del suplemento, lo que es razonable ya que el grano de cebada es de alta fermentescibilidad ruminal. Según Cerrato et al. (2002) para que la viabilidad de la flora celulolítica se vea comprometida no importa tanto la magnitud del descenso en los valores de pH como el tiempo en el cual se mantienen por debajo de valores críticos, y observó que pasadas las 12 horas se compromete en forma crítica la viabilidad de la flora, lo que en este caso no ocurre ya que sólo disminuye a valores por debajo de 6 durante 2 horas diarias. Según Hoover et al. (1984) los descensos del pH por debajo de 6 provocan una pérdida de la actividad celulolítica, con completa cesación de la

digestión de la fibra entre valores 4,5 y 5; niveles que en el presente trabajo no se alcanzan.

En este ensayo las concentraciones medias de N-NH₃ en líquido ruminal obtenidas para los tres tratamientos fueron: sólo forraje, 17,44 mg/dl; melaza y grano como suplementos, 18,03 mg/dl y sólo grano como suplemento 18,55 mg/dl (Tabla VIII). Estos valores fueron semejantes a los obtenidos por diversos autores con sistemas de alimentación similares al utilizado en este trabajo (Satter y Slyter, 1974; Boniface et al., 1986; Berzaghi et al., 1996), y que afirmaron que niveles entre 5-8 mg/dl de N-NH₃ no serían una limitante para la síntesis de PM.

Entre los tres tratamientos no se registraron diferencias significativas en la concentración media de N-NH₃. De acuerdo con otros ensayos realizados y con lo planteado en la hipótesis del presente trabajo, debería registrarse una disminución en la concentración de N-NH₃ al adicionar suplementos energéticos por una mayor captación microbiana y posterior síntesis de PM (Van Vuuren et al., 1986; Van Vuuren et al., 1993; Berzaghi et al., 1996), lo que no fue observado en el presente estudio. Sin embargo, en estudios realizados por Sannes et al. (2002) y por Kim et al. (2005) la adición de azúcares no provocó disminuciones en los valores de N-NH₃.

En referencia a la evolución diaria de la concentración de N-NH₃ no se observaron variaciones importantes en las horas posteriores al suministro del alimento en ninguno de los tratamientos realizados ni en el transcurso del día, a diferencia de lo expresado por Repetto et al. (2001) y Cajarville et al. (2006) que obtuvieron, concentraciones máximas de N-NH₃ en rumen durante los períodos de consumo, en animales alimentados con praderas que contenían fracciones nitrogenadas rápidamente fermentescibles.

En el presente trabajo se registraron variaciones significativas entre concentraciones de N-NH₃ para los diferentes grupos respecto a la misma hora del día (t x h) (Figura 2 y Tabla VIII). Las fluctuaciones en la concentración de N-NH₃ en todos los tratamientos se mantuvieron bastante uniformes a lo largo del día, entre 15 y 20 mg/dl, detectándose sólo ciertos picos mayores a 20 mg/dl, pero en distintos momentos, no relacionados con los momentos de suministro del alimento (Figura 2).

8. CONCLUSIONES

En nuestras condiciones de experimentación, a pesar de que la digestibilidad de la FND fue menor con la suplementación energética, ésta mejoró la digestibilidad de la MS y de la MO. En pasturas maduras, este aumento ocurrió independientemente del tipo de suplemento utilizado. En pasturas en estadio vegetativo temprano, este incremento fue mayor cuando se utilizó únicamente grano como suplemento energético. La digestibilidad de la FND fue menor con la suplementación energética.

A pesar de que las cantidades de N retenido fueron mayores en los animales que consumieron solo pasturas, la eficiencia de retención en relación al N ingerido fue igual para los tres tratamientos.

Con los niveles de suplementación utilizados en el presente trabajo, el grano como suplemento energético registró un menor pH ruminal, mientras que la suplementación con grano-melaza generó el pH más alto en los animales. La concentración de N-NH₃ ruminal no fue afectada por el agregado de suplementos energéticos.

9. BILIOGRAFÍA

Abarca, S.; Ibrahim, M.; Mannelje, L't.; Franco, M. (1999) Parámetros de fermentación ruminal de animales en pasturas mezcladas gramínea-leguminosa para el trópico húmedo de Costa Rica. *Revista Facultad Agronomía (LUZ)*; 16: 548-552.

A.O.A.C.; Association of Oficial Agricultural Chemist. (1984) *Oficial Methods of analisis*. 14 th. Ed. Arlington, U.S., 1141p.

Bach, A.; y Calsamiglia, S. (2006) La fibra en los rumiantes: ¿Química o Física?. En: *Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Curso de Especialización XXII*. FEDNA, Barcelona. p 99-103.

Bach, A.; Yoon, I.K.; Stern, M.D.; Jung, H.G.; Chester-Jones, H. (1999) Effects of type of carbohydrate supplementation to lush pasture on microbial fermentation in continuous culture. *Journal Dairy Science*. 82:153-160.

Beever, D.E.; Thomson, D.J.; Ulyatt, M.J.; Cammell, S.B.; Spooner, M.C. (1985) The digestion of fresh perennial ryegrass white clover by growing cattle fed in doors. *Br. Journal Nutrition* 54: 763-775.

Beever, D.E.; Siddons, R.C. (1986) Digestion and metabolism in the grazing ruminant. En: L.P. Miligan, W.L. Grovum, A. Dobson. *Control of digestion and metabolism in ruminants*. Englewood Cliffs, Prentice-Hall, NJ, p 479-497.

Berzaghi, P.; Herbein, J.H.; Polan, C.E. (1996) Intake, site and extente of nutrient digestion of lactating cow grazing pasture. *Journal Dairy Science*. 79:1581-1589.

Boniface, A.; Murria, R.; Hogan, J. (1986) Optimum level of ammonia in the rumen liquor of cattle fed tropical pasture hay. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 16: 151-154.

Branine, M.E.; Galyean, M.L. (1990) Influence of grain and monesin supplementation on ruminal fermentation, intake, digesta kinetics and incidence and severity of frothy bloat in steers grazing winter wheat pasture. *Journal Animal Science*. 68:1139-1150.

Broderick, G. A.; Radloff, W. J. (2004) Effect of Molasses Supplementation on the Production of Lactating Dairy Cows Fed Diets Based on Alfalfa and Corn Silage. *Journal Dairy Science*. 87:2997-3009.

Brown, W.F. (1990) Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Reviews*. 70:567-590.

Bryant, M. P. (1973) Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. *Fed. Proc.* 32:1809-1813.

Cajarville, C.; Curbelo, A.; Errandonea, N.; Alonso, M.; Aguerre, M.; Repeto, J.L. (2000) Efectos de la suplementación con diferentes granos sobre el ambiente ruminal de bovinos a pastoreo. I: pH ruminal y cinética de degradación de distintos forrajes. En: Congreso Mundial de Buiatría XXI, Punta del Este, Uruguay, p. 146.

Cajarville, C.; Pérez, A.; Aguerre, M.; Britos, A.; Repetto, J.L. (2006) Effect of the timing of cut on ruminal environment of lambs consuming temperate pastures. *Journal Animal Science*. 84, Suppl. 1/*Journal Dairy Science*. 89, Suppl. 1:103.

Calsamiglia, S.; Bach, A.; Ferret, A. (2004) Tablas Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal de composición y valor nutritivo de forrajes y subproductos fibrosos húmedos. II. SUBPRODUCTOS HUMEDOS. FEDNA. Madrid, 28 p.

Calsamiglia, S.; Ferret, A.; Devant, M. (2002) Effect of pH and pH fluctuations on microbial fermentation and nutrient flow from a dual-flow continuous culture system. *Journal Dairy Science*. 85: 574-579.

Calsamiglia, S. (1997) Nuevas bases para la utilización de la fibra en dietas para rumiantes. En: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal Curso de Especialización: Avances en Nutrición y Alimentación Animal XV. FEDNA, Madrid. 16p.

Cameron, M.R.; Klusmeyer, T.H.; Lynch, G.L.; Clark, J.H. (1991) Effects of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum, and performance of cows. *Journal Dairy Science*. 74: 1321.

Cardozo, P.W.; Calsamiglia, S.; Ferret, A. (2001) Efecto del pH sobre la fermentación microbiana y el flujo de nutrientes en un sistema de doble flujo continuo. *ITEA* 22:364-366.

Caton, J.S.; Dhuyvetter, D.V. (1997) Influence of energy supplementation on grazing ruminants: requirements and responses. *Journal Animal Science*. 75:533-542.

Cerrato, M.; Calsamiglia, S.; Ferret, A. (2005) Efectos del tiempo a pH subóptimo y el número de ciclos sobre la fermentación microbiana ruminal en cultivo continuo. Disponible en: http://www.aida-itea.org/jornada37/3_nutricion/6_RVNII/rvnii-cerrato_ciclos2005.pdf (fecha de consulta: 10/11/2007).

Chamberlain, D.G.; Thomas, P.C.; Wilson, W.; Newbold, C.J.; Mac Donald J.C. (1985) The effects of carbohydrate supplements on ruminal concentrations of ammonia in animals given diets on grass silage. *Journal Agricultural Science*. Cambridge. 104: 331-340.

Chamberlain, D.G.; Robertson, S.; Chung, J. J. (1993) Sugar versus starch as supplements to grass silage: effects of ruminal fermentation and the supply of microbial protein to the small intestine, estimated from the urinary excretion of purine derivatives, in sheep. *Journal Science Food Agriculture*. 63:189-194.



Cheng, K. J.; Forsberg, C.W.; Minota, H.; Costerton, J.W. (1991) Microbial ecology and physiology of feed degradation within the rumen. En: Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants. Tsuda, T., Sasak, Y., Kawashima R. (eds.). Academic Press, Toronto. p. 595-624.

Chessson, A. ; Forsberg, C.W. (1988) Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. En: P.N. Hobson. The rumen microbial ecosystem. Elsevier, NY. p. 251-284.

Corbett, J.L.; Pickering, F.S. (1983) Rumen microbial degradation and synthesis of protein in grazing sheep. En: Feed information and animal production. G.E. Robards, R.G. Packham (eds). C.A.B. Farnham Royal, Engl. p. 301.

Counotte, G.H.M.; Van Klooster, A.Th.; Van Der Kuilen, J.; Prins, R.A. (1979) An analysis of the buffer system in the rumen of the dairy cattle. Journal Animal Science. 49:1536.

Crawford, R.J.; Shriver, B.J.; Varge, G.A.; Hoover, W.H. (1983) Buffer requirements for maintenance of pH during fermentation of individual feeds in continuous cultures. Journal Dairy Science. 66:1881.

Czerkowsky, J.W. (1985) Degradation of solid feeds in the rumen: spatial distribution of microbial activity and its consequences. En: Control of digestion and metabolism in ruminants. L.P. Milligan, W.L. Grovum, A. Dobson (eds). Proc. symposium ruminant physiology VI. Banff. Canada. p. 158-171.

de Blas, C.; Rebollar, P.G.; Méndez, J. (1995) Utilización de Cereales en Dietas de Vacuno Lechero. En: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Curso de Especialización XI. FEDNA, Barcelona. 18p.

Demarquilly, C.; Andrieu, J. (1990) Forrajes. En: Alimentación de bovinos, ovinos y caprinos. INRA. Mundi – Prensa. Madrid. p. 69-75.

De Veth, M.J.; Kolver, E. S.; (2001) Prediction of ruminal pH of dairy cows fed pasture. Proc. New Zealand Society Animal Production. 61: 241-243.

Dewhurst, R.J.; Davis, D.R.; Merry, R.J. (2000). Microbial protein supply from the rumen. Animal Feed Science Technology. 85: 1-21.

Egan, A.R.; Ulyatt, M.J. (1980) Quantitative digestion of fresh herbage by sheep VI. Utilization of nitrogen in five herbages. Journal Agricultural Science. Cambridge. 94:47-56.

Elias, A. (1983) Digestión de pastos y forrajes tropicales. En: Los pastos en Cuba. Instituto de Ciencia Animal. Cuba. p. 187-247.

Elizalde, J.C.; Merchen, N.R.; Faulkner, D.B. (1999) Supplemental cracked corn for steers fed fresh alfalfa: I. Effects on digestion of organic matter, fiber and starch. Journal Animal Science. 77:457-466.

- Elizalde, J.C.; Santini, F.J.; Pasinato, A.M. (1996) The effect of stage of harvest on the process of digestion in cattle fed winter oats indoors II. Nitrogen digestion and microbial protein synthesis. *Animal Feed Science Technology*. 64:245-255.
- Erfe, J.D.; Baila, R.J.; Teather, R.M.; Mahadevan, S.; Saner, F.D. (1982) Effect of the pH on fermentation characteristics and protein degradation by rumen microorganisms in vitro. *Journal Dairy Science* 65: 1457.
- Fahey, G.C.; Berger, L.L.; (1988). Los Carbohidratos en la nutrición de los rumiantes. En: C.D. Church. *El Rumiante: Fisiología digestiva y nutrición*. Zaragoza. Acribia. p. 305-337.
- Feng, P.; Hoover, W.H.; Miller, T.K.; Blauwiekel, R. (1993) Interactions of fiber nonstructural carbohydrates on lactation and ruminal function. *Journal Dairy Science*. 80: 1426.
- Forbes, J. M.; (1986) *The voluntary food intake of farm animals*. Butterworth, London. 25p.
- García Astrada, A.; Santini, F.J. (1986) Degradabilidad proteica de dos cultivares de festuca arundinacea en novillos en pastoreo. Relación con el ambiente ruminal. *Revista Argentina de Producción Animal* Vol 6 N° 7-8:397-406.
- Galyean, M.L.; Goestch, A.L. (1993) Utilization of forage fiber by ruminants. En: *Forage cell wall structure and digestibility*. H.G. Jung, D.R. Buxton, R.D. Hatfield, J. Ralph (eds.). ASA-CSSA-SSSA00, Madison, WI. p. 34-72
- Goad, D.W.; Goad, C.L.; Nagaraja, T.G. (1998) Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. *Journal Animal Science*. 76: 234-241.
- Goering, H.K.; Van Soest, P.J. (1970) Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). *Agriculture Handbook* 379, USDA, 20p.
- Hall, M.B. (2002). Working with sugars (and molasses). En: *Proc. Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, 13th*. Gainesville, FL. p.146 -158
- Hennessy, D.W.; Williamson, P.J.; Nolan, J.V.; Kempton, T.J.; Leng, R.A. (1983) The roles of energy -or protein- rich supplements in the subtropics for young cattle consuming basal diets the are low in digestible energy and protein. *Journal Agriculture Science*. Cambridge.100:657-666.
- Henning, P.H.; Steyn, D.G.; Meissner, H.H. (1993) Effect of synchronization of energy and nitrogen supply on ruminal characteristics and microbial growth. *Journal Animal Science*. 71:2516-2528.
- Herrera-Saldana, R.; Gómez-Alarcon, R.; Torabi, M.; Huber, J.T. (1990) Influence of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis. *Journal Dairy Science*. 73: 142.

Hodgson J. (1977) Factors limiting herbage intake by the grazing animal. Prod. International Meeting on Animal Production for temperate Grassed. Dublin, p.70.

Hoffman, K.; Muller, L.D.; Fales, S.L; Holden, L.A. (1993) Quality evaluation and concentrate supplementation of rotational pasture grazed by lactating cows. Journal.Dairy Science. 76:2651-2663.

Hoover, W.H.; Stokes, S.R. (1991) Balancing carbohydrates and protein for optimum rumen microbial yield. Journal Dairy Science. 74:3630– 3644.

Hoover, W.H.; Kincaid, C.R.; Varga, G.A.; Thayne, W.V.; Junkins, C.L. (1984) Effects of solids and liquid flows on fermentation in continues cultures. IV. pH and dilution rate. Journal Animal Science. 58: 692.

Hoover, W. H. (1986) Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. Journal Dairy Science. 69: 2755-2766.

Hsu, J.T.; Faulkner, D.B.; Garleb, K.A.; Barclay, R.A.; Fahey, G.C.; Berger, L.L. (1987) Evaluation of corn fiber, cottonseed hull, oat hulls and soybean hulls as roughage sources for ruminants. Journal Animal Science. 65: 244-255.

Hungate, R.E. (1966) The rumen and its microbes. Academic Press, Inc., New York. 533 p.

Huntington, G.B. (1997) Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. Journal Animal Science. 75: 852-867.

Istasse, L.; Reid, G.W.; Tait, C.A.G.; Ørskov, E.R. (1986) Concentrates for dairy cows: effects of feeding method, proportion in diet and type. Animal Feed Science Technology. 15:167-182.

Jasaitis, D.K.; Wohlt, J.E.; Evans, J.L. (1987) Influence of feed ion content on buffering capacity of ruminal feedstuffs in vitro. Journal Dairy Science. 70: 1391.

Jetana, T.; Abdullah, N.; Halim, R.A.; Jalaludin, S.; Ho, Y.W. (2000) Effects of energy and protein supplementation on microbial-N synthesis and allantoin excretion in sheep fed guinea grass. Animal Feed Science Technology. 84:167-181.

Joo, J.W.; Bae, G.S.; Min, W.K.; Choi, H.S.; Maeng, W.J.; Chung, Y.H.; Chang M.B. (2005) Effect of protein sources on rumen microbial protein synthesis using rumen simulated continuous culture system. Asian-Australasian Journal Animal Science. 18: 326-331.

Jung, H.G.; Allen, M.S. (1995) Charateristics of plant cell wall affecting intake and digestibility of forages by ruminants. Journal Animal Science. 73: 2774-2790

Karnezos, T.P.; Matches, A.G.; Preston, R.L.; Brown, C.P. (1994) Corn supplementation of lambs grazing alfalfa. Journal Animal Science. 72:783-789.

Kaufmann, W.; Hagemester, H.; Dirksen, G. (1980) Adaptation to changes in dietary composition, level and frequency of feeding. En: Digestive physiology and metabolism in ruminants. Y. Ruckebusch, P. Thivend (eds.). AVI Publishing Co., Westport, CT. p. 587.

Kim, K.H.; Lee, S.S.; Kim, K.J. (2005) Effect of intraruminal sucrose infusión on volatile fatty acid production and microbial protein síntesis in sheep. Asian-Australasian Journal Animal Science. 18: 350-353.

Kolver, E.; Muller, L.D.; Varga, G.A.; Cassidy, T.J. (1998) Synchronization of ruminal degradation of supplemental carbohydrate with pasture nitrogen in lactating dairy cows. Journal Dairy Science. 81: 2017-2028.

Krebs, G.; Leng, R. A. (1984) The effect of supplementation with molasses/urea blocks on ruminal digestion. Proc. Australian Society of Animal Production. 15:704-709.

Kristensen, N.B.; Harmon, D.L. (2004) Effect of increasing ruminal butyrate absorption on splanchnic metabolism of volatile fatty acids absorbed from the washed reticulorumen of steers. Journal Animal Science. 82: 3549-3559.

Krysl, L.J.; Branine, M.E.; Cheema, A.U.; Funk, M.A.; Galyean, M.L. (1989) Influence of soybean meal and sorghum grain supplementation on intake, digesta kinetics, ruminal fermentation, site and extent of digestion and microbial protein synthesis in beef steers grazing blue grama rangeland. Journal of Animal Science. 67: 3040-3051.

McDonald, P.; Edwards, R.A.; Greenhalgh, J.F.D.; Morgan, C.A. (2002) Nutrición Animal. 6ª ed. Acribia, Zaragoza, España. 587p.

Marshall, S.A.; Campbell, C.P.; Mandell, I.B.; Wilton, J.W. (1992) Effects of source and level of dietary neutral detergent fiber on feed intake, ruminal fermentation, ruminal digestion in situ, and total tract digestion in beef cattle fed pelleted concentrates with or without supplemental roughage. Journal Animal Science. 70: 884-893.

Mathers, J.C.; Miller, E.L. (1981) Quantitative studies of food protein degradation and the energetic efficiency of microbial protein synthesis in the rumen of sheep, given chopped lucerne and rolled barley. Br. Journal Nutrition. 25: 351-366.

Merchen, N.R. (1988) Digestión, Absorción y Excreción en los Rumiantes. En: C.D. Church. El Rumiante: Fisiología digestiva y nutrición. Zaragoza. Acribia. p. 191-223.

Mertens, D.R. (1973) Application of theoretical mathematical models to cell wall digestion and forage intake in ruminants. Ph. D. Thesis. Cornell University, Ithaca, NY. 105p.

Mertens, D.R. (1994) Regulation of forage intake. En: Forage quality, evaluation and utilization, Jr. G.L Fahey, M. Collins, D.R. Mertens, L.E Moser (eds.). American

Minson, D. J. (1981) Effects of chemical and physical composition of herbage eaten upon intake. En: Nutritional limits to animal production from pastures proceedings of an international symposium held at Sta. Lucia. J.R. Hacker (ed.). Queensland, Australia. p. 187-197.

Mould, F.L.; Orskov, E.R.; Mann, S.O. (1983) Associative effects of mixed feeds. I. Effect of type and level of supplementation and the influence of rumen fluid pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion of various roughages. *Animal Feed Science Technology*. 10: 15-30.

Mould, F.L.; Orskov, E.R. (1984) Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in sacco, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate. *Animal Feed Science Technology*. 10:1.

Nápoli, G.M.; Santini, F.J. (1987) Dinámica de la digestión ruminal de forrajes frescos. *Revista Argentina de Producción Animal*. 7:431-443.

National Research Council (1985) Nutrient Requirements of Sheep. 6^o ed. National Academy Press, Washington, DC. 244p.

Nicolic, J.A.; Filipovic, R. (1981) Degradation of maize protein in rumen contents. Influence of ammonia concentration. *Br. Journal Nutrition*. 45: 111-116.

Nocek, J.E.; Grant, A.L. (1987) Characterization of in situ nitrogen and fiber digestion and bacterial nitrogen contamination of hay crop forages preserved at different dry matter percentages. *Journal Animal Science*. 64: 552.

Obara, Y.; Dellow, D.W.; Nolan, J.V. (1991) The Influence of Energy-Rich Supplements on Nitrogen Kinetics in Ruminants. En: Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants. International symposium on ruminal physiology, XII. Academic Press Limited. N.Y. 22:515-537.

Obispo, N.E.; Pares, P.; Hidalgo, C.; Palma, J. Y.; Godoy, S. (2001) Consumo de forraje y ganancia diaria de peso en bovinos de carne en crecimiento suplementados con fuentes proteicas. *Zootecnia Trop*. 19: 423-442.

Opatpatanakit, Y.; Kellaway, R.C.; Lean, I.J. (1993) Substitution effects of feeding rolled barley grain to grazing dairy cows. *Animal Feed Science Technology*. 42: 25-38.

Ørskov, E.R.; Fraser, C. (1975) The effects of processing of barley-based supplements on rumen pH, rate of digestion and voluntary intake of dried grass in sheep. *Br. Journal Nutrition*. 34:493-500.

Ørskov, E.R. (1992) Protein nutrition in ruminants. Academic Press Limited. London.

Ørskov, E.R.; Ryle, M. (1998) Energy nutrition in ruminants. Chalcombe Publications, Lincoln. 524p.

Osbourn, D.F.; Terry, R.A.; Outen, G.E.; Cakmmell, S.B. (1974) The significance of a determination of cell walls as the rational basis for the nutritive evaluation of forages. Proc. Int. Grassl. Congress¹². Moscow. 3:274.

Owens, V. N.; Albrecht K. A.; Muck, R. E.; Duke, S. H. (1999) Protein degradation and fermentation characteristics of red clover and alfalfa silage harvested with varying levels of total nonstructural carbohydrates. Crop Science 39:1873–1880.

Owens, F.N.; Secrist, D.S.; Hill, W.J; Gill, D.R. (1998) Acidosis in cattle: a review. Journal Animal Science. 76: 275-286.

Owens, F.N.; Goetsch, A.L. (1988) Fermentación Ruminal. En: C.D. Church. El Rumiante: fisiología digestiva y nutrición. Zaragoza. Acribia. p. 159-189.

Owens, F.N.; Zinn, R. (1988) Metabolismo de la Proteína en los Rumiantes. En: C.D. Church. El Rumiante: fisiología digestiva y nutrición. Zaragoza. Acribia. p. 255-281.

Parra, R; Combellas, J.; González, E. (1972) Composición y valor nutritivo de forrajes producidos en el trópico. 2. fracciones químicas que afectan la disponibilidad de los componentes fibrosos. Agron. Trop. 22: 219-230.

Paterson, J.A.; Beleya, R.L.; Bowman, J.P.; Kerley, M.S.; Williams, J.E. (1994) The impact of forage quality and supplementation regimes in ruminant animal intake and performance. En: Forage quality evaluation and utilization. G.C. Fahey, M. Collins, D.R. Mertens, L.E. Moser (eds.). ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI. p.59-114.

Pérez, A. (2006). pH, amoníaco y producción de proteína microbiana en el rumen de corderos, según el horario de corte de la pastura consumida. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria, UdelaR, Montevideo, Uruguay. 36p.

Pérez, A.; Repetto, J L; Britos, A; Aguerre, M.; Alonso, M.; Gómez, X.; Pérez, A. L.; Cazulli, G.; Garín, D.; Cajarville, C. (2006) Ruminant pH of lambs, heifers and cows fed temperate pastures depending on its time of cut. En: Simposio Internacional & 6º Conferencia de Cojeras en Rumiantes. XIV. Colonia, Uruguay. 3p.

Pérez, J.F.; Balcells, J.; Guada, J.A.; Castrillo, C. (1997) Rumen microbial production estimated either from urinary purine derivative excretion or from direct measurements of 15 N and purine bases as microbial markers: effect of protein source and rumen bacteria isolates. Journal Animal Science. 65: 225-236.

Pichard, G.; Van Soest, P.J. (1977) Protein solubility of ruminants feed. Proc. Cornell Nutr. p. 91-98.

- Pitt, R.E.; J.S.Van Kessel, D.G.; Fox, A.N.; Pell, M.C.; Barry; Van Soest, P.J. (1996) Prediction of volatile fatty acids and pH within the net carbohydrate and protein system. *Journal Animal Science*. 74:226-244.
- Rearte, D.H.; Santini, F.J. (1989) Digestión ruminal y producción en animales a pastoreo. *Revista Argentina de Producción Animal*. 9: 93-105.
- Renner, J.E.; Baschar, H.O.; Montesinos Ramos, I.G. (1991) Tratamiento de la Acidosis Aguda del Contenido Ruminal Mediante una Solución de Hidroxido de Calcio. En: *Jornadas Uruguayas de Buiatría XIX, Paysandú, Uruguay*.
- Repetto, J.L.; Mota, M.; Marinho, P.; Vega, L.; Cajarville, C. (2000) pH ruminal y cinéticas de degradación del forraje en bovinos que pastorean praderas suplementadas o no con concentrados energéticos. *Reunión Latinoamericana de Producción Animal, XVI, Montevideo, Uruguay*. c.c.4.1
- Repetto J.L., Aguerre M., Alonso M., Curbelo A., Errandonea N., Cajarville C., 2001. Concentración de amoniaco ruminal en vacas en pastoreo, suplementadas con diferentes granos. En: *VII Congreso Nacional de Veterinaria, Montevideo, Uruguay*.
- Repetto, J.L.; Cajarville, C.; D'Alessandro, J.; Curbelo, A.; Soto, C.; Garin, D. (2005) Effect of wilting and ensiling on ruminal degradability of temperate grass and legume mixture. *Animal Research*. 54:1-8.
- Robinson, P.H.; Tamminga, S.; Van Vuuren, A.M. (1987). Influence of declining level of feed intake and varying the proportion of the starch in the concentrate on rumen ingesta quantity, composition and kinetics of ingesta turnover in dairy cows. *Livestock Production Science*. 17: 37-62.
- Russell, J.B. (1998) Strategies that ruminal bacteria use to handle excess carbohydrate. *Journal Animal Science*. 76: 1955-1963.
- Russell, J.B.; Sniffen, C.J.; Van Soest, P.J. (1983) Effect of carbohydrate limitation on degradation and utilization of casein by mixed rumen bacteria. *Journal Dairy Science*. 66: 763.
- Russell, J.B.; O'Connor, J.D.; Fox, D.G.; Van Soest, P.J.; Sniffen, C.J. (1992) A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. *Journal Animal Science*. 70:3551-3561.
- Russell, J.B.; Dombrowski, D.B. (1980) Effect of pH on the efficiency of growth of pure cultures of rumen bacteria in continuous culture. *Applicate Environment Microbiology*. 39: 604-609.
- Russell, J.B.; Hespell, R.B. (1981) Microbial rumen fermentation. *Journal Dairy Science*. 64:1153-1169.
- Russell, J.B.; Wilson, D.B. (1996) Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH?. *Journal Dairy Science*. 79:1503-1509.

- Sannes, R.A.; Messman, M.A.; Vagnon, D.B. (2002) Form of rumen-degradable carbohydrate and nitrogen on microbial protein synthesis and protein efficiency of dairy cows. *Journal Dairy Science*. 85: 900-908.
- Satter, L. D.; Slyter, L.L. (1974) Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British Journal Nutrition*. 32 :199-208.
- Sauvant, D. ; Grenet, E. ; Michalet-Doreau, B. (1995) Dégradation chimique des aliments dans le reticulum rumen. En: *Nutrition des ruminants domestiques: ingestion et digestion INRA*. p.383-404.
- Sauvant, D. ; Meschey, D.; Mertens, D. (1999) Les composantes de l'acidose ruminale et les effets acidogènes des rations. *INRA Prod. Anim.*12 :49-60.
- Schingoethe, D.J. (1996) Dietary influence on protein level in milk and milk yield in dairy cows. *Animal Feed Science Technology*. 60:181-190.
- Shriver, B.J.; Hoover, W.H.; Sargent, J.P.; Crawford, R.J.; Thayne, W.V. (1986) Fermentation of a high concentrate diet as affected by ruminal pH and digesta flow. *Journal Dairy Science Food Agriculture*. 32: 973-981.
- Slyter, L.L. (1976) Influence of acidosis on rumen functions. *Journal Animal Science*. 43: 910-929.
- Soita, H.W. ; Christensen, D.A. ; McKinnon, J.J. (2000) Influence of particle size on the effectiveness of the fiber in barley silage. *Journal Dairy Science*. 83: 2295-2300.
- Stern, M.S.; Calsamiglia, S.; Endres, M.I. (1994) Dinámica del metabolismo de los hidratos de carbono y del nitrógeno en el rumen. En: *Fundación Española para el Desarrollo de Nutrición Animal. Curso de Especialización X .FEDNA, Madrid*.
- Staples, C.R.; Davis, C.L.; McCoy, G.C.; Clark, J.H. (1984) Feeding value of wet corn gluten feed for lactating dairy cows. *Journal Dairy Science*. 67:1214-1220.
- Stokes, S.R.; Hoover, W.H.; Miller, T.K.; Manski, R.P. (1991) Impact of carbohydrate and protein levels on bacterial metabolism in continuous culture. *Journal Dairy Science*. 74:860–870.
- Sutton, J. D.; Phipps, R.H.; Cammell, S. B; Humphries, D. J. (2001) Attempts to improve the utilization of urea-treated wholecrop wheat by lactating dairy cows. *Journal Animal Science*. 73:137–147.
- Sutton, J.D.; Broster, W.H.; Napper, D.J.; Siviter, J W. (1985) Feeding frequency for lactating cows: effects on digestion, milk production and energy utilization. *British Journal of Nutrition*, 53:117-130.
- Tebot, I.; Britos, A.; Godeau, J.M.; Cirio, A. (2002) Microbial protein production determined by urinary allantoin and renal urea appearing in normal and low protein fed corriedale sheep. *Veterinary Research*. 33:101-106.

Ulyatt, M.J. (1981) The feeding value of herbage: can it improved? *New Zealand Journal Agriculture*. 15:200-205.

Ulyatt, M.J.; Mc Rae, J.C.; Clarke R.T.; Pearce, P.D. (1975) Quantitative digestion of fresh herbage by sheep. IV. Protein synthesis in the stomach. *Journal Agriculture Science*. Cambridge. 84:453-458.

Van Soest, P.J. (1982) *Nutrional Ecology of the Ruminant*. O and B books, Corvallis, OR. USA. 374p.

Van Soest, P.J. (1994) *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2^{ed.}. Cornell University Press, Ithaca. 476p.

Van Soest, P. J.; Wine, R. H. (1967) Use of detergents in the analysis of fibrous feeds, IV. Determination of plant cell wall constituents. *Journal Association Official Analytic Chemistry*.

Van Vuuren, A.M.; Tamminga, S.; Ketelaar, R.S. (1990) Ruminal availability of nitrogen and carbohydrates from fresh and preserved herbage in dairy cows. *Neth. Journal Agriculture Science*. 38:49-512.

Van Vuuren, A.M.; Van der Koelen, C.J.; Vroons-de Brun, J. (1986) Influence of level and composition on concentrate supplements on rumen fermentation patterns of grazing dairy cows. *Neth. Journal Agriculture Science*. 34:457-467.

Van Vuuren, A.M.; Van Der Koelen, C.J.; Vroons-de Brun, J. (1993) Ryegrass versus corn starch or beet pulp fiber diets effects on digestion and intestinal aminoacids in dairy cows. *Journal Dairy Science*. 76: 2692.

Varga, G.A.; Kolver, E.S. (1997) Microbial and animal limitations to fiber digestion and utilization. En: *Conf. New developments in forage science contributing to enhanced fiber utilization by ruminants*. *Journal Nutrition*. 127:819-823.

Voelker, J.A.; Allen, M.S. (2003) Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn:3. Effects on ruminal fermentation, pH and microbial protein efficiency in lactating dairy cows. *Journal Dairy Science*. 86: 3562-3570.

Wallace, R.J.; Cotta, M.A. (1988) Metabolism of nitrogen-containing compounds. En: P.N. Hobson. *The Rumen Microbial Ecosystem.*, Elsevier Applied Science. London. p.375-393.

Wohlt, J.E.; Jasaitis, D.K; Evans, J.L. (1987) Use of acid and base titrations to evaluate the buffering capacity of ruminant feedstuffs in vitro. *Journal Dairy Science*. 70: 1465.

Yemm, E.W.; Willis, A. J. (1954) The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemistry Journal*. 57: 508.