

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**AMBIENTE RUMINAL Y SÍNTESIS DE PROTEÍNA MICROBIANA DE
OVINOS Y BOVINOS PASTOREANDO PASTURA TEMPLADA DE BUENA
CALIDAD Y SUPLEMENTADA CON DISTINTOS NIVELES DE GRANO DE
SORGO**

“por”

**Luis Ignacio, CUITIÑO DE VEGA
Gustavo Luis, PERSAK GRIOT
Rafael, VERA JORCIN**



TESIS DE GRADO presentada como
uno de los requisitos para obtener el
título de Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Producción animal

MODALIDAD: Ensayo experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2011**



FV-29239

AGRADECIMIENTOS

A nuestro tutor Dr. Martín Aguerre.

A los Drs. José Luis Repetto y Cecilia Cajarville.

A los integrantes del departamento de Nutrición Animal y Bovinos de la Facultad de Veterinaria.

A nuestros compañeros tesistas: Álvaro González, Andrés Cabrera, Cecilia Acosta, Giorella Pinaccio, Leandro Assandri, Rosina Carbone y Vanesa Machado.

A los funcionarios del Campo Experimental N°2 Libertad y de biblioteca de la Facultad de Veterinaria.

A Graciela Vila por la traducción.

A nuestras familias y amigos por su apoyo incondicional.

A todos ellos.... Gracias.

TESIS aprobada por

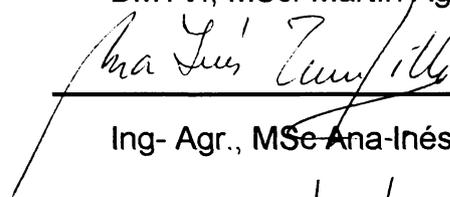
Presidente de mesa:


Ing. Agr., PhD. Mariana Carriquiry

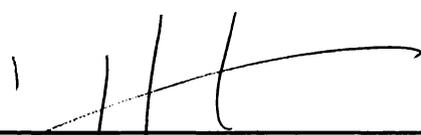
Segundo Miembro (Tutor):


DMTV., MSc. Martín Aguerre

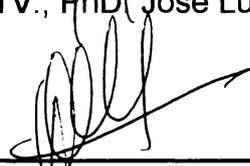
Tercer Miembro:


Ing- Agr., MSc Ana-Inés Trujillo

Co - Tutor:


DMTV., PhD. José Luis Repetto

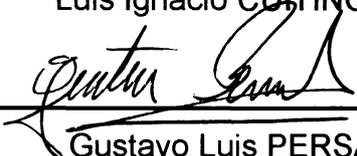
Co - Tutor:


DMTV., PhD. Cecilia Cajarville

Fecha:

Autores:

Luis Ignacio CUITIÑO DE VEGA



Gustavo Luis PERSAK GRIOT

Rafael VERA JORCIN

Tesis de grado

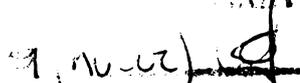
FACULTAD DE AGRICULTURA Y GANADERIA
Aprobado por:  11/10/2019

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE FIGURAS CUADROS	IV
LISTA DE ABREVIATURAS	V
RESÚMEN	1
SUMMARY	2
INTRODUCCIÓN	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
1. Características del ambiente ruminal	5
2. Nitrógeno Amoniacoal	6
3. Síntesis de proteína microbiana	7
4. pH ruminal	9
5. Comparación ovino-bovino	11
HIPÓTESIS	13
OBJETIVO GENERAL	13
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
MATERIALES Y MÉTODOS	13
RESULTADOS	16
DISCUSIÓN	26
CONCLUSIONES	30
BIBLIOGRAFÍA	31

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Cuadro I. Composición química de la pastura y del grano de sorgo suministrados -----	14
Cuadro II. Composición química, nivel de FND proveniente de forraje y porcentaje de MO digestible de las dietas consumidas por vaquillonas alimentadas en base a una pastura templada y suplementadas con grano de sorgo molido -----	16
Cuadro III. Composición química, nivel de FND proveniente del forraje y porcentaje de MO digestible de las dietas consumidas por ovinos alimentados con una pastura templada y suplementados con grano de sorgo molido al 0, 0,5, 1,0 y 1,5% del PV -----	17
Cuadro IV. pH, NH ₃ de bovinos y ovinos alimentados en base a una pastura templada (T1) y suplementados con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo -----	18
Figura 1. Evolución del pH ruminal de bovinos consumiendo una pasturas templadas de buena calidad suplementadas con sorgo en diferentes niveles -----	18
Figura 2. Evolución de la concentración de NH ₃ en rumen de bovinos consumiendo una pasturas templadas de buena calidad suplementadas con sorgo en diferentes niveles -----	19
Figura 3. Evolución del pH ruminal de ovinos consumiendo una pasturas templadas de buena calidad suplementadas con sorgo en diferentes -----	20
Figura 4. Evolución de la concentración de NH ₃ en rumen de ovinos consumiendo una pasturas templadas de buena calidad suplementadas con sorgo en diferentes niveles -----	21
Cuadro V. Síntesis de proteína microbiana en rumen (SPM; gNM/día) y eficiencia de síntesis de proteína microbiana en rumen (gNm/kgMODI) de bovinos y ovinos alimentados en base a una pastura templada (T1) y suplementados con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo -----	22
Cuadro VI. Comparación de la respuesta a la suplementación en pH, NH ₃ , síntesis de proteína microbiana en rumen (SPM; gNM/día) y eficiencia de síntesis de proteína microbiana en rumen (gNm/kgMODI) de bovinos y ovinos alimentados en base a una pastura templada y suplementados con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo -----	22
Figura 5. pH ruminal de bovinos y ovinos consumiendo dietas en base a pasturas templadas de buena calidad suplementados con distintos niveles de grano de sorgo -----	23
Figura 6. NH ₃ (mg/dl) ruminal de bovinos y ovinos consumiendo dietas en base a pasturas templadas de buena calidad suplementados con distintos niveles de grano de sorgo -----	24
Figura 7. SPM (gMN/d) ruminal de bovinos y ovinos consumiendo dietas en base a pasturas templadas de buena calidad suplementados con distintos niveles de grano de sorgo -----	24
Figura 8. ESPM (gMN/kgDOMI) ruminal de bovinos y ovinos consumiendo dietas en base a pasturas templadas de buena calidad suplementados con distintos niveles de grano de sorgo -----	25

LISTA DE ABREVIATURAS



AGV: ácidos grasos volátiles.
ALM: almidón.
ATP:
CHE: carbohidratos estructurales.
CHNE: carbohidratos no estructurales.
CNF: carbohidratos no fibrosos.
C₄:
CHO: carbohidratos.
CMOD: consumo materia organica digestible.
ESPM: eficiencia sintesis proteina microbiana.
FAD: fibra ácido detergente.
FND: fibra neutro detergente.
FNDf: fibra neutro detergente del forraje.
MO: materia orgánica.
MOD: materia organica digestible.
MODI: materia organica digestible ingerida.
MODR:
MS: materia seca.
N: nitrógeno.
NH₃: amoniaco.
NM: nitrogeno microbiano.
PC: proteína cruda.
PDR:
PV: peso vivo.
S: media de los grupos suplementados.
SPM: sintesis de proteina microbiana.
T1: grupo sin suplementar.
T2: grupo suplementado al 0,5 del peso vivo.
T3: grupo suplementado al 1,0 del peso vivo.
T4: grupo suplementado al 1,5 del peso vivo.

Resumen

En la presente investigación se estudió en bovinos y ovinos de forma comparativa el efecto de la inclusión de niveles crecientes de grano de sorgo cuando consumieron dietas forrajeras de alta calidad, sobre el ambiente ruminal y la síntesis de proteína microbiana. Para tal fin fueron utilizados 24 capones (cruza Milchschaf x Corriedale) y 24 terneras (cruzas), mantenidos en condiciones totalmente controladas. Los animales de cada especie fueron sometidos a uno de 4 tratamientos con diferentes niveles de inclusión de sorgo T1: 0% de peso vivo (PV), T2: 0,5% de PV, T3: 1,0% de PV y T4: 1,5% de PV, en base seca. Se midió el pH y NH_3 ruminal cada una hora durante 6 horas post-suplementación de la mañana. Para tal fin se obtuvieron muestras de líquido ruminal a través de una sonda implantada quirúrgicamente en rumen a 4 animales de cada tratamiento y en cada especie. El pH en el líquido ruminal fue medido inmediatamente después de colectada la muestra mediante un pHmetro digital, mientras que la concentración de NH_3 ruminal se midió mediante destilación directa de una muestra conservada con 10 mL de NaCl al 20%. La síntesis de proteína microbiana (SPM) fue estimada por métodos indirectos a través de la determinación de la excreción de derivados púricos en orina según la técnica propuesta por Chen & Gomes (1995). El ensayo consistió en estudiar si la respuesta en los parámetros antes mencionados, a la inclusión de distintos niveles de grano de sorgo en la dieta era similar en ovinos y bovinos. Se observó que la inclusión de concentrado en la dieta determinó una disminución en los valores medios de pH para ambas especies siendo esta caída lineal al incrementarse los niveles de concentrados en la dieta. El pH ruminal medio de los bovinos tendió a ser mayor respecto al de los ovinos. Con respecto al NH_3 , observamos que al incorporar concentrado en la dieta o su incremento en los niveles de suplementación, no afectó los niveles de NH_3 en ninguna de las especies. Sin embargo, los niveles de NH_3 en rumen difirieron significativamente entre ambas especies. La inclusión de concentrado en la dieta determinó un aumento en la SPM en los bovinos y una caída en la SPM en los ovinos. Mientras que el aumento en los niveles de suplementación determinó una caída en la ESPM en ambas especies. Si bien el incremento del nivel de inclusión de grano de sorgo en la dieta determinó una respuesta similar en bovinos y ovinos en el pH, el NH_3 ruminal y la ESPM los valores medios fueron diferentes entre ambas especies. Contrario a lo esperado, la SPM presentó una respuesta diferente para cada especie, donde el efecto de la adición de los diversos niveles de concentrados ocasionó un aumento lineal en la SPM para bovinos mientras que para ovinos sucedió lo contrario. Dado estos resultados bovinos y ovinos no deberían usarse como modelos similares de investigación en nutrición de rumiantes.

Summary

The present comparative study was conducted to evaluate the effect of adding higher levels of sorghum grain to high quality forage diets, on the ruminal environment and, on the microbial protein synthesis of cattle and sheep. It was carried out under highly controlled conditions using 24 wethers (Milchschaaf x Corriedale crossbreds) and 24 calves (crossbreds). The animals of each species were put under 1 of 4 treatments with different levels of sorghum inclusion: T1: 0% of live weight (LW), T2: 0,5% of LW, T3: 1,0% of LW, and T4: 1,5% of LW, on a dry basis. Both pH and ruminal NH_3 were measured every hour during the following 6 hours after morning supplementation. Those ruminal fluid samples were collected from the rumen of 4 animals for each species in every treatment through a surgically attached tube. Ruminal fluid pH was measured immediately after collecting the sample with a digital pH meter, and NH_3 concentration by direct distillation of the sample conserved in 10 mL of 20 % NaCl. Microbial protein synthesis (MPS) was quantified by indirect methods estimating the urinary output of purine derivatives according to the method proposed by Chen & Gomes (1995). The test consisted in studying if the response to the aforementioned parameters, the adding of different levels of sorghum grain to diet, was the same for both sheep and cattle. It was observed that the inclusion of concentrate in diet determined a reduction of mean pH values for both species decreasing linearly when concentrate levels in diet increased. Cattle mean ruminal pH tended to be greater than that of sheep. With regard to NH_3 , we observed that when adding concentrate to diet or its increases did not affect NH_3 levels in any of the species. Nevertheless NH_3 levels in rumen differed significantly between both species. The adding of concentrate to diet determined an increase of MPS for cattle and a decrease for sheep. Notwithstanding the increase in supplementation levels determined a decrease in the microbial protein synthesis efficiency (MPSE) in both species. Although the increase of sorghum grain inclusion level into diet determined a similar response in cattle and sheep in pH, in ruminal NH_3 and MPSE, mean values were different between both species. Contrarywise, MPS gave a different response for each species, the effect of adding different concentrate levels caused a linear increase in MPS in cattle and the opposite in sheep. Considering these results cattle and sheep should not be used as identical models for ruminant nutrition research.

Introducción

En Uruguay la producción agropecuaria representa un 8,1% del Producto Bruto Interno (DIEA, 2009). El esquema forrajero es en base a pasturas tanto naturales como implantadas, dado que es el insumo más abundante, económico y sostenible en los sistemas productivos. Sin embargo, la mejora de la producción animal en la región está limitada por la productividad, calidad y extensión de dichas pasturas (Risso, 2007).

La producción agrícola se ha extendido en los últimos años, pasando de una superficie de 622 mil hectáreas sembradas en la zafra 2001-2002 a 1246 mil hectáreas en el año 2010 (DIEA, 2010); provocando una competencia por la tierra, la que ha llevado a un incremento del precio de la misma. Esto ha determinado que existan al menos dos fenómenos. Por un lado ha desplazado áreas de cultivos y pasturas a suelos de menor fertilidad y con mayores restricciones de crecimiento (Matos, 2008). A pesar de la adaptación de algunas leguminosas forrajeras a suelos poco fértiles, la producción está limitada en condiciones tales como sequía, anegamiento, acidez del suelo, que afectan la implantación, crecimiento y persistencia de las pasturas. Por otro lado, ha llevado a una reducción de la superficie destinada al rubro pecuario, claramente evidenciado en la producción lechera y en la invernada (novillos y corderos pesados). A pesar los cambios impulsados por la variación del precio de la tierra en los últimos años el sector lechero ha aumentado su producción en un 30%, pasando de 1060 millones de litros en la zafra 2001-2002, a 1396 millones en el período 2008-2009; con un precio de 0,428 dólares por litro (INALE, 2011). En el mismo sentido que para la lechería en el rubro ganadero en los últimos años hubo un incremento en la producción de carne bovina de un 17 % (Oyhantçal y col., 2009); con una evolución de precio de 1,45 U\$S/ kg, para el año 2001 a un valor de 4,05 U\$S/Kg en segunda balanza para el año 2011 (INAC, 2001-2011). En lo que refiere al rubro ovino, la faena se incrementó en 50% pasando de 935 mil cabezas faenadas en el 2005 a 1855 miles de cabezas en el 2008, este incremento ha sido favorecido por la evolución del precio en el cordero pesado que actualmente es de 4,325 U\$S/kg (INAC, 2011). Queda claro pues, que el incremento en el precio de la tierra, en conjunto con los buenos precios de la leche y carne, han llevado a los productores a ser más eficientes, mejorando índices productivos y reproductivos. Esta intensificación de los sistemas se ha logrado, entre otras cosas, por medio del uso de pasturas templadas en combinación con suplementos alimenticios; principalmente concentrados energéticos utilizados para cubrir el déficit forrajero en momentos críticos, maximizar la producción y balancear dietas (McGilloway y Mayne, 1996). Esto implica lograr una mayor eficiencia en el uso de los recursos (mayor utilización de las pasturas), y una mayor productividad (aumentos de carga animal con mayores tasas de ganancia diaria); lo cual se traduce en mejoras en el resultado económico de las empresas (García y col., 1996; Simeone y Berreta, 2006).

Las pasturas de clima templado utilizadas en la intensificación de dichos sistemas productivos, se caracterizan en su etapa vegetativa, por presentar alta digestibilidad y un alto contenido en proteína bruta, con una rápida velocidad de degradación a nivel ruminal, y un desbalance en la relación proteína-energía, la cual limita la eficiencia de utilización del nitrógeno (N) por parte de los microorganismos ruminales. Este desbalance podría ser cubierto por concentrados tales como los

granos de cereales (Nápoli y Santini, 1988; Rearte y Santini, 1989; Sauvart y col., 1995; Elizalde y col., 1996; Berzaghi y col., 1996). La inclusión de concentrado en suministros crecientes en dietas en base a pasturas templadas presenta efectos benéficos en lo que se refiere a un mayor consumo de materia seca total, (Reis y Combs, 2000; Kozloski y col., 2006a), mejora la eficiencia de utilización del N del forraje, dado por un mayor aporte de proteína microbiana a los animales y menores pérdidas de N en el rumen como NH_3 . Dado que los concentrados poseen generalmente mayor digestibilidad de la Materia Orgánica (MO) que el forraje, cuando dietas a base de pastura son suplementadas con granos, la digestibilidad total de la MO generalmente aumenta (Dixon y Stockdale, 1999; Reis y Combs, 2000; Bargo, 2003). Sin embargo, Bowman y Sanson (1996), reportaron que la inclusión de concentrados en una dieta en base a pasturas templadas aumentó la concentración de AGV y disminuyó el pH ruminal, teniendo como consecuencia cambios en la flora microbiana, reduciendo la flora celulolítica responsable de la digestión de la fibra llevando como consecuencia a la disminución de la digestibilidad de la misma y del consumo total. Cuando las inclusiones se realizan de manera abrupta se puede llegar a un aumento relativo de los microorganismos productores de ácido láctico (*Streptococcus bovis*), con una disminución en el crecimiento de los microorganismos consumidores de lactato, con la consecuente acumulación de ácido láctico y desarrollo de acidosis (Strobel y Russell, 1986; Picknova y col., 2004).

Dentro de los cereales que se encuentran disponibles en el país, el sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) en los últimos 10 años ha tenido una expansión constante manifestando incrementos tanto en lo que respecta a la superficie sembrada como también a los rendimientos obtenidos. A modo de ejemplo, en la zafra 1999-2000 se sembraron 12.428 hás con una producción total de 19.942 tt de grano (DIEA, 2003); mientras que en la zafra 2009-2010 fueron sembradas 49.056 hás resultando en 138.000 tt de grano producido (DIEA, 2010). A su vez la evolución en el precio del grano de sorgo en los últimos 10 años ha tenido un crecimiento considerado, siendo de 62 U\$/tt en la zafra 2001 y 152 U\$/tt en la zafra del 2010 (DIEA, 2010). Estudiando la evolución en el precio del sorgo y el maíz de forma comparativa en los últimos años, hemos visto que el maíz se ubicó en precio en un 25% por encima del sorgo (DIEA, 2001-2010). Considerando que según tablas de composición de alimentos (NRC, 2001) ambos cereales poseen similares características desde el punto de vista nutricional; el sorgo se convierte en una herramienta atractiva, y económica explicado esto por la plasticidad del cultivo en lo que se refiere a adaptación y desempeño del mismo bajo condiciones de estrés abiótico y biótico, que lo diferencian de otros cultivos más exigentes tanto en nutrientes, eficiencia de uso del agua disponible en suelo (Graveros, 2003); y comportamiento bajo condiciones climáticas adversas.

Dado que la suplementación con granos de cereales es una herramienta cada vez más importante en la creciente intensificación de los sistemas de producción, a las ventajas que presenta el grano de sorgo como suplemento y a que la respuesta a la suplementación puede estar influenciada por sus efectos a nivel ruminal es que surge la necesidad de profundizar en el conocimiento de cómo la inclusión de cantidades crecientes de este grano afecta el ambiente ruminal y la síntesis de proteína microbiana en animales consumiendo pasturas templadas. A su vez, debido a la escasa información disponible que permita evaluar si estos efectos de la suplementación son similares en bovinos y ovinos, surge la necesidad de evaluar los

efectos de la suplementación sobre el ambiente ruminal y la síntesis de proteína microbiana en ambas especies.

Antecedentes específicos

Características del Ambiente Ruminal

La fermentación ruminal de los componentes fibrosos de las plantas tiene lugar por la acción de una población microbiana activa, la cual se haya conformada por hongos, micoplasma, protozoos, los cuales constituyen el 50% de la biomasa ruminal (Hungate, 1966) y bacterias, de las cuales las más importantes son: fermentadoras de carbohidratos no estructurales (CHNE) y fermentadoras de carbohidratos estructurales (CHE) (Bryant, 1973). La población microbiana se puede clasificar de acuerdo a la utilización de sustratos y a sus productos finales (Hungate, 1966); dentro de esta clasificación encontramos, celulolíticos, amilolíticos, hemicelulolíticos, pectinolíticos, ureolíticos, metenogénicas, proteolíticos, y productores de amoníaco. El ambiente ruminal en condiciones de pastoreo se caracteriza por tener una flora microbiana predominantemente celulolítica, una concentración de AGV de 70 a 90 mmol/L y una relación acético/propiónico de 3-3,5 a 1 (Van Soest, 1994; Remond y col., 1995); con rangos de pH variables a lo largo del día; dependiendo del tipo de pastura, la cantidad de azúcares solubles presentes y el ritmo de alimentación (Smith, 1993; Ciavarella y col., 2000; Cajarville y col., 2000; Cajarville y col, 2006). La maximización de la tasa de fermentación microbiana de la fibra de la dieta, depende directamente de mantener condiciones adecuadas para las especies de microorganismos allí existentes (Dixon y Stockdale, 1999). Estas condiciones son anaerobiosis controlada, temperatura, un rango de pH entre 6,2 y 6,8 (Iglesia, 1979), y una concentración de N amoniacal de 5 mg/dL mínima para el uso eficiente de los hidratos de carbono (Rearte y Santini, 1989).

Cuando se adiciona granos sobre una dieta en base a forraje templado de buena calidad, generalmente se produce una disminución del amoníaco en rumen, debido a una mayor captación del mismo por parte de los microorganismos ruminales, lo que sería explicado por una mejor sincronía entre el nitrógeno y la energía disponible en rumen (Rusell y col., 1983; Krysl y col., 1989; Branine y Galayen y col., 1990; Berzaghi y col., 1996; García y col., 2000). A su vez, se induce en rumen a una rápida producción de los AGV, produciendo variaciones en la proporción de acético, propiónico, y butírico a relaciones de 50:40:10 respectivamente (Owens y Goesth, 2008); el pH ruminal puede descender pudiendo llegar a valores inferiores a los considerados óptimos para la flora celulolítica (Stock y Britton, 1993; Cajarville y col., 2006). Como consecuencia de este cambio de pH, la flora microbiana sufre modificaciones, viéndose favorecida la proporción de microorganismos amilolíticos en detrimento de los microorganismos celulolíticos responsables de la digestión de la fibra, (Tamminga y col., 1993), pudiendo también causar reducciones en la ingesta de forrajes (Bowman y Sanson, 1996).

Teóricamente la inclusión de concentrado en la dieta determinaría un mayor aporte de CHNE, que fermentarían rápidamente produciendo una rápida producción de AGV lo que llevaría a una caída en el pH ruminal. Sin embargo estudios realizados en bovinos y ovinos consumiendo forrajes templados de alta calidad muestran

resultados que no siempre son coincidentes a los que se obtienen con la suplementación con concentrado en animales consumiendo otro tipo de forraje (Cajarville y col.; 2006; Perez, 2006).

Estudios realizados por Elizalde y col., (1999); en novillos alimentados con alfalfa fresca y suplementados con maíz, determinaron que la suplementación con dicho grano, incrementó el consumo de materia orgánica (MO), disminuyó la ingesta de forraje y aumentó la proporción de materia orgánica que se digirió en el intestino delgado, sin embargo, animales pastoreando forrajes que presentan mayor contenido de pared celular (C4) y se suplementan con niveles crecientes de maíz no muestran la reducción en el pH ruminal (Pordomingo y col., 1991). Resultados similares fueron observados por Reis y Combs (2000), en la evaluación del efecto de niveles de suplementación de grano creciente sobre el ambiente ruminal y el rendimiento de vacas lecheras en pastoreo, quienes determinaron que el pH ruminal y la concentración de AGV, no fueron afectados por la suplementación o la cantidad de concentrado.

Nitrógeno Amoniacal

El nitrógeno amoniacal (NH_3) ruminal es formado a partir de la degradación de la proteína en rumen, así también como del N no proteico dietario y endógeno. A su vez el contenido de NH_3 ruminal constituye un pool dinámico de N, constituido a través de diversos aportes (degradación de proteína bruta dietaria e hidrólisis de urea reciclada en el rumen a través de la saliva y sangre) y egresos (captación de N por los microorganismos, absorción a través de la pared ruminal y paso al omaso) al sistema (Baldwin y Allison, 1983).

La captación de amoníaco por parte de las bacterias ruminales depende entre otros factores de la sincronización entre la degradación de los CHO y la degradación de las proteínas. Definiendo como sincronía a un proceso simultáneo en la alimentación del rumiante, esta se refiere a la presencia de proteína (fuente de N, proteína verdadera) y energía (CHO fermentados) degradables en el rumen de tal manera que estén disponibles simultáneamente en las proporciones requeridas.

Cuando faltan CHO solubles para el crecimiento microbiano o hay un exceso de proteína degradable, como ocurre en algunas circunstancias con las pasturas templadas de buena calidad, se produce una asincronía entre la disponibilidad de energía y de NH_3 en el rumen. Esto hace que la captación de N por parte de los microorganismos sea menor que el NH_3 liberado, por lo cual la concentración de NH_3 aumenta en el líquido ruminal (Di Marco y Aello, 2002) llegando a valores que se sitúan entre 20 a 30 mg/dL (Riquelme y col., 2008). La suplementación con concentrados energéticos mejora la eficiencia de utilización del N del forraje, proporcionando un mayor número de aminoácidos a los animales y reduciendo la pérdida de N en el rumen como NH_3 . (Merchen y Titgeneyer, 1992). Según Bargo y col. (2003) el efecto más consistente sobre el ambiente ruminal de la suplementación con concentrado energético a vacas lecheras de alta producción consumiendo pasturas templadas de buena calidad, es una disminución del NH_3 .

Reis y Combs (2000) trabajando con vacas Holando consumiendo pasturas de trébol rojo, alfalfa y pasto ovillo, y suplementadas con cantidades crecientes de maíz seco

(0, 5, o 10 kg de MS respectivamente) reportaron que a medida que fue aumentando la inclusión de grano, disminuyó la concentración de NH₃ ruminal, según los autores esto fue debido a la capacidad de las bacterias ruminales para utilizar mayores cantidades de NH₃ dado por una mayor oferta de MO fermentada en rumen. Bargo y col. (2002) plantean que la caída en los niveles de amoníaco ruminal de bovinos consumiendo forrajes templados y suplementados con granos puede ser debido a una mayor eficiencia en la utilización del N de la dieta, debido al aporte de CHO que permite reducir las pérdidas del mismo. Otro factor que podría explicar la disminución en la concentración de amoníaco ruminal a la hora de incorporar granos de cereales en la dieta sería un menor consumo de forraje debido a un efecto de sustitución de forraje por concentrado, de esta forma la caída en el consumo de N podría determinar menores aportes de proteína degradable y caídas en el NH₃ ruminal (Elizalde y col., 1999; Berzaghi y col., 1996; Van Vuuren y col., 1993). Ensayos realizados por Henning y col. (1993) en ovinos; estudiando el efecto de la sincronización entre energía y N, en lo referente a la SPM, demostraron que la actividad microbiana no se vio afectada al suministrarse concentrado en baja frecuencia, mientras que la actividad microbiana se mejoró notablemente cuando había un suministro constante de energía y N en el rumen. A su vez Witt y col. (2000), observaron que la sincronización de la energía alimentaria y el aporte de N en ovejas alimentadas con pasturas templadas y suplementadas con concentrado energético no mejoró su performance productiva pero redujo la concentración de urea en el plasma durante todo el día. Según estos autores una frecuencia y concentración adecuada de la suplementación son beneficiosos porque pueden reducir los excesos de N y por lo tanto de NH₃ en el rumen y sangre.

En síntesis, la utilización de NH₃ ruminal por parte de los microorganismos depende principalmente de la velocidad de liberación y el equilibrio entre la disponibilidad de N y CHO. La disponibilidad de CHO determina la tasa de crecimiento microbiano (Isaacson y col., 1975; Estrobel y Russell, 1986; Hoover y Stohs, 1991) y la eficiencia de utilización de NH₃ ruminal (Newbold y Rust, 1992; Hristov y col., 1997; Heldt y col., 1999). Si la energía es limitante los microorganismos ruminales degradan las proteínas de los alimentos a aminoácidos (Russell y col., 1983) y la absorción de NH₃ disminuye (Nocek y Russell, 1988; Hristov y col., 1997). Por lo tanto la disponibilidad de CHO en la fermentación ruminal es un factor clave para mejorar la eficiencia ruminal del NH₃ y la utilización de N dietético en los rumiantes.

Síntesis de proteína microbiana

La proteína (aminoácidos) que llega al duodeno puede tener tres orígenes diferentes: la proteína microbiana sintetizada en el rumen, la proteína del alimento que no ha sido degradada y la proteína endógena (descamaciones celulares, jugos digestivos, etc.). La proteína microbiana constituye, generalmente entre el 50-80% del flujo duodenal de N aminoacídico en los rumiantes (Bach, 2005). La proteína microbiana es una fuente de alta calidad de proteína para los rumiantes, en términos de su composición en aminoácidos (Merchen y Titgeneyer, 1992). La síntesis de proteína microbiana ocurre a nivel ruminal bajo condiciones anaeróbicas, requiriéndose N y energía (ATP), además de otros nutrientes como azufre y fósforo (Egaña y col., 1986).

Debido al papel que juegan los microorganismos ruminales en la digestión de las estructuras de la pared celular de los vegetales y a que la proteína microbiana tiene una gran calidad, las dietas de los rumiantes deben ser formuladas para permitir el crecimiento óptimo de estos microorganismos. Una porción de proteína bacteriana es destruida dentro del rumen, pero la mayoría entra al abomaso pegada a las partículas de alimentos. Los ácidos fuertes secretados en el abomaso paran toda actividad microbiana y las enzimas digestivas comienzan a separar las proteínas para formar aminoácidos. Aproximadamente 60% de los aminoácidos absorbidos en el intestino delgado son derivadas de proteína bacteriana, y el 40% restante es de proteína no degradada en el rumen (AFRC, 1992).

La composición de los aminoácidos en la proteína bacteriana es relativamente constante, independientemente de la composición de la proteína en la dieta (Dewhurst y col., 2000). Todos los aminoácidos, incluyendo los esenciales, están presentes en la proteína bacteriana en una proporción que se aproxima a las proporciones de aminoácidos requeridos para cubrir los requerimientos nutricionales de los rumiantes (O'Connor y col., 1993). Así la conversión de proteína de los alimentos a proteína bacteriana es usualmente un proceso beneficioso. La excepción es cuando se alimenta con proteína de alta calidad y su degradación hasta NH_3 producido en el rumen no permite su llegada a intestino. La cuantificación de la síntesis de proteína microbiana y la determinación de la degradación de la proteína de los alimentos en el rumen son dos puntos críticos en todos los sistemas de valoración nutritivo para los animales rumiantes (Clark y col., 1992), y cobran especial relevancia en el caso de los animales que presentan altos niveles de producción, ya que un aporte insuficiente de aminoácidos puede limitar la misma (Nocek y Russel, 1988).

Resultados expuestos por Sairanen y col. (2005) sugieren que la forma de aumentar la SPM en rumiantes que consumen pasturas templadas es por medio del aumento del consumo de MO total y de MO digestible. Sin embargo, ensayos realizados por Berzaghi y col. (1996) y García y col. (2000), en bovinos de leche consumiendo pasturas de buena calidad y suplementados con concentrados energéticos no reportan cambios en la SPM cuando se suplementó, lo que probablemente este asociado a que el consumo de MO no varió entre los distintos tratamientos. No obstante Elizalde y col. (1999a) menciona que si bien a la hora de suplementar con niveles crecientes de concentrados energéticos se aumenta el consumo de MO, no se encontraron cambios en la SPM en rumen.

La inclusión de concentrado en suministros crecientes en dietas en base a pasturas templadas presenta efectos benéficos en lo que se refiere a un mayor consumo de materia seca total, (Reis y Combs, 2000; Kozloski y col., 2006a), mejora la eficiencia de utilización del N del forraje, dado por un mayor aporte de proteína microbiana a los animales y menores pérdidas de N en el rumen como NH_3 .

La eficiencia de síntesis de proteína microbiana expresada como gramos de N microbiano por kg de MO verdaderamente digerida en rumen (g NM/kg MOVDR), es un buen indicador de la eficiencia de uso de la energía en rumen para la síntesis de N microbiano (Bach y col., 2005). El ARC (1984), menciona un valor promedio de 30g N/kg MODR para ovinos, mientras que para bovinos, el valor promedio es de 22,7g N/kg MODR que resulta de 68 dietas diferentes en 20 ensayos resumidos por

Johnson y Bergen, (1982). En un ensayo realizado por Garcia y col. (2000) en bovinos sometidos a tres tratamientos, los que consistían en pasturas templadas de buena calidad, pasturas suplementadas con un 1% de PV de grano molido de cebada y otro suplementado con 1% de PV de granos de maíz; observaron que la ESPM fue similar en los tres tratamientos, con lo que concluye que al incorporar concentrados energéticos no mejoró la ESPM coincidiendo con resultados obtenidos por Berzaghi y col, (1996); Sairanen y col., (2005); Elizalde y col., (1999b). En contraposición Merchen y Titgeneryer, (1992); Van Vuuren y col., (1993) reportan un aumento en la ESPM expresada en función de la MO aparentemente digerida en rumen, cuando se suplementó con un concentrado rico en almidón a animales consumiendo una pastura templada de buena calidad. Muller, (1999); reportó que la incorporación de concentrados energéticos mejora la captura de la proteína degradable en el rumen (PDR), la síntesis de proteína microbiana y por consiguiente la producción animal.

Es necesaria una correcta sincronización entre el aporte de materias nitrogenadas y CHO solubles al rumen para favorecer el crecimiento microbiano, e incrementar el flujo de proteína microbiana al duodeno (Branine y Galyean, 1990; Berzaghi y col., 1996). Es menester destacar la dificultad que se presenta a la hora de lograr una óptima sincronía de nutrientes en el rumen, dado por las características de velocidad de degradación de cada alimento. Van Vuuren (1999), reportó que el N en el raigrás se degrada a un ritmo de 9 a 14% por hora, mientras que la materia orgánica de los pastos compuestas principalmente por CHE se degradan a un ritmo de 7% por hora, creando una relación asincrónica entre la proteína y energía disponible para la síntesis de proteína microbiana. Esto lleva a una ineficiente captura de N que puede dar lugar a una alta concentración de NH₃ ruminal y urea en sangre pudiendo ser asociado a un gasto de energía para la síntesis de urea a partir del NH₃ (Holver y Muller, 1998). Teóricamente según Gehman y col. (2006), un carbohidrato con una velocidad de degradación de 13 a 14% por hora sería la mejor opción para optimizar la captura de N cuando pastan los animales.

Los principales factores que influyen en la producción microbiana ruminal son: el nivel y tipo proteico de la dieta, cantidad y disponibilidad de N (Hristov y col., 1997; Gosselink y col., 2003); nivel de ingesta (Heldt y col., 1999); y, fundamentalmente, la cantidad, disponibilidad, tipo y balance de CHO (Dewhurst y col., 2000; Gosselink y col., 2003). Clark y col. (1992), considera que la utilización eficiente de energía para la síntesis de proteína bacteriana tiende a ser mayor cuando las dietas están compuestas por 30 y 70% de concentrado y pastura respectivamente. La capacidad relativa del suministro de energía y nitrógeno procedente de los granos de cereales para maximizar el crecimiento de microorganismos en el rumen y el paso de nitrógeno no amoniacal y aminoácidos a intestino delgado puede ser modificado por sus interacciones con la cantidad de consumo de alimento, el tipo y forma física del alimento, relación forraje-concentrado en la dieta y la fuente y la cantidad de nitrógeno y energía en la dieta (Clark y col., 1992; Delahoy y col., 2003).

pH ruminal

El pH a nivel ruminal es un importante regulador para la actividad microbiana, ya que variaciones en el mismo pueden modificar la composición de la flora (Van Soest, 1994), pudiendo llevar a una disminución en la performance del animal (Russell y

Hespell, 1981). Un pH bajo, afecta la fermentación microbiana ruminal y su crecimiento (Russell y Dombrowsky, 1980; de Moldes y Orskov, 1983; Hoover, 1986). Pitt y col., (1996) marca un pH promedio de 6,2 como el umbral por debajo del cual el crecimiento de los microorganismos que realizan la digestión de los CHO estructurales están deprimidos. Según los mismos autores el crecimiento de los mismos se suprime por debajo del pH 5,8. La reducción en el pH ruminal ha sido a menudo citada como la principal causa de depresión de la digestión de la fibra (Catón y Dhuyetter, 1997). Es por eso la importancia que cobra mantener el mismo dentro de valores normales; para esto el rumiante cuenta con diversos mecanismos de amortiguación del pH, entre las que se encuentra la presencia de fosfatos, bicarbonatos como principal componente en las secreciones salivares (Rearte y Santini, 1989), y la absorción de AGV. Estos mecanismos de regulación pueden verse saturados, debido a errores dietéticos mediante la ingestión en exceso de CHO rápidamente fermentescibles o solubles, o por una mala relación entre CHO de fácil y de difícil fermentación. Los alimentos con dichas características son los que tienen niveles altos en azúcares solubles y poca fibra efectiva, dentro de ellos estarían los granos de cereales, pasturas en etapa vegetativa de alta calidad, tubérculos y derivados de la melaza entre otros.

Se ha demostrado tanto *in vitro* (Terry y col., 1969; Stewart, 1977; Hilthr y Dhority, 1983), como *in vivo* (Moldes y Orskov, 1983), que el pH óptimo para la digestión microbiana de la fibra oscila entre 6,6 y 7. A su vez Russell y Dombrowski, (1980); indican que las poblaciones de bacterias celulolíticas disminuyen cuando el pH varía desde 6,2 hasta 5,7, mientras que la fermentación de CHO solubles por parte de las bacterias persiste hasta rangos de pH ruminal de 4,9 a 4,6. Church (1979) reportó que en rumiantes consumiendo dietas a base de forraje, el pH ruminal oscila entre 6,2 y 6,8. Sin embargo según varios autores, la media diaria de pH ruminal es de 5,6-6,4 en vacas lecheras alimentadas con forraje de alta calidad (Van Vuuren y col., 1993; Stockdale, 1994; Carruthers y col., 1997; O Mara y col., 1997; Kolver y col., 1998). Pérez (2006) realizó un experimento en ovinos, los cuales consumieron de manera restringida pastura templada de buena calidad, reportando una disminución en el pH ruminal a las 2 y a las 4 hs post-ingesta, el cual llegó a valores mínimos de 5,6 y 5,44 en los pastoreos de la mañana y de la tarde respectivamente, permaneciendo por debajo de los valores óptimos por aproximadamente 12 horas.

Varios trabajos reportaron una disminución en el pH cuando se incorporó concentrados energéticos a dietas en base a pasturas templadas de bovinos, (Elizalde y col., 1999a; Bargo y col., 2002; Sairanen y col., 2005; Cajarville y col., 2006). Sin embargo, Garcia y col. (2000) no observó cambios en el pH al suministrar pasturas de alta calidad o las mismas suplementadas con concentrados energéticos a bovinos, situándose estos valores en 6,1 y 6,09 respectivamente. Mientras que Kaufmann (1976) observó que vacas lecheras alimentadas con altos niveles de concentrados muchas veces al día, mantuvieron estable el pH del rumen, pero las depresiones se produjeron cuando los concentrados se suministraron dos veces al día. Varios trabajos señalan que la inclusión de altas proporciones de concentrados provocan un pH ruminal que oscila entre 5,6 y 6,2, siendo los valores más bajos correspondientes a dietas más fermentables (Schwartzkopf-Genswein, 2003). Sin embargo Nikkhah y col., (2004), observó que el pH del líquido ruminal, orina y heces no se alteró suministrando diferentes tipos de concentrado, pero el pH mínimo poco

después de la alimentación fue ligeramente menor para los tratamientos con granos de cebada que para otros tratamientos en vacas lecheras.

Cuando se incorporó concentrados energéticos a dietas en base a pasturas templadas en ovinos, se observó que el pH fue severamente deprimido durante varias horas después de consumir concentrado una vez al día, pero cuando fueron alimentadas con la misma cantidad de concentrado suministrado en cuatro comidas diarias, se mantuvo el pH del rumen en un nivel satisfactorio para la digestión de la fibra (Moir y Somers, 1957). Sin embargo Henning (1980) informó que al suministrar bajos niveles de maíz (7,8% del consumo de materia seca) a ovinos bajo pastoreo aumentó el consumo de forraje, mientras que a mayores niveles de suplementación con maíz (más de 23% de consumo de MS) se vio reducido el consumo de forraje y la digestibilidad de la fibra explicado esto por la caída abrupta del pH a niveles inferiores de los óptimos para el crecimiento y actividad de la flora celulolítica, repercutiendo en la digestión de la fibra y en una consiguiente depresión en el consumo.

Comparación ovino-bovino

La capacidad de los rumiantes de obtener nutrientes a partir del aporte de alimentos fibrosos depende de la fermentación ruminal, proceso que ya ha sido ampliamente explicado. Sin embargo, entre las distintas especies existen diferentes hábitos alimenticios en estado natural, lo cual se debe a diferencias anatómicas y fisiológicas importantes. Cabe destacar que los ovinos presentan una mayor selectividad del alimento que los bovinos. Las especies más selectivas quienes consumen alimentos de mayor valor nutritivo, tienen una fermentación de la ingesta más rápida y el tiempo de tránsito en estómago anterior es corto, por lo que tienden a comer con mayor frecuencia, rumian frecuentemente durante periodos cortos y tienen un estómago anterior relativamente más pequeño. Por el contrario, los animales menos selectivos que ingieren alimentos de menor calidad tienden a comer mayores volúmenes pocas veces al día, rumiando pocas veces al día pero por periodos prolongados. Estas especies cuentan con un retículo-rumen voluminoso y omaso grande, produciéndose una fermentación lenta y con un tiempo de tránsito prolongado (Dukes, 1999).

En este sentido un análisis estadístico realizado en base a varios experimentos en donde se encuentran 27 especies forrajeras principalmente de clima templado, indican que los bovinos presentaron una tendencia a digerir estos forrajes aproximadamente un 3% más efectivamente que los ovinos, mientras que estos últimos tendieron a digerir mejor los concentrados en comparación a los bovinos, (Cipolloni y col., 1951). Cuando la digestibilidad aparente de la MS de la dieta es mayor a 66% los ovinos presentaron un mayor coeficiente de digestibilidad que los bovinos, sucediendo lo contrario al ofrecerse dietas con digestibilidad menor a 66% (Mertens y Ely, 1982). Coincidiendo con los resultados obtenidos por Colucci y col. (1989) y Colucci y col. (1990), quienes estudiaron la digestibilidad y el tránsito en ovinos y bovinos sometidos a diferentes tratamientos, los que consistían en bajos y altos niveles de consumo y diferentes relaciones de forraje y concentrado en la dieta (alfalfa, maíz quebrado, harina de soja). Estos autores mencionan que los bovinos digieren menos la MO, energía, PC y almidón que los ovinos cuando se los

suplementa con altas proporciones de concentrado, esto trae como consecuencia el aumento del tiempo de retención de las partículas indigestibles en el tracto gastrointestinal. La tasa de pasaje de partículas de alfalfa y harina de soja por retículo-rumen fue negativamente relacionada al porcentaje de concentrado de la dieta para ambas especies a bajo consumo, mientras que el pasaje de líquido fue mayor a alto que a bajo consumo para las dos especies y para todas las dietas. Si bien el pasaje de partículas no difiere a alto o a bajo consumo en ambas especies, no sucede lo mismo con la tasa de pasaje de líquido desde el rumen, la cual fue mayor en vacas que en ovejas en todas las dietas a ambos consumos. Existiendo un tránsito más lento en los ovinos que en bovinos, esto podría traer como consecuencia una mayor permanencia de los CHNE en rumen, pudiendo llevar a un aumento de los AGV y una concomitante disminución del pH. Sin embargo, Bines y Davey (1970) no encontraron diferencias en los tiempos de retención para las dietas que contienen desde 40 a 100% de concentrado en ambas especies. Según Poppi y col. (1981) la mejor digestión de los bovinos al administrarse dietas fibrosas se debe en parte al mayor tiempo de retención de los alimentos en rumen en comparación a los ovinos. Otros autores como Playne (1978) consideran el mejor reciclaje de minerales por la saliva en los bovinos, lleva a una mayor eficiencia de la actividad microbiana dando como resultado una mayor digestibilidad.

Como se ha planeado varios estudios muestran diferencias en digestibilidad y tránsito digestivo entre ambas especies, sin embargo estos estudios se han desarrollado usando dietas principalmente compuestas por forrajes conservados, sin profundizar en los efectos que la variación en la dieta tiene sobre el ambiente ruminal de ambas especies. A su vez, muchas conclusiones se han sacado de la comparación de resultados de experimentos hechos en diferente momento. Es así que el presente ensayo busca estudiar la diferencia en la respuesta al incremento en los niveles de suplementación en bovinos y ovinos consumiendo pasturas templadas, estudiando cómo repercute ésto en el ambiente ruminal y la síntesis de proteína microbiana en rumen.

Hipótesis

La inclusión de niveles crecientes de grano de sorgo en dietas de bovinos y ovinos consumiendo pasturas templadas de buena calidad determinará una caída del pH y de la concentración de NH₃ ruminal, una mayor síntesis de proteína microbiana en rumen, sin cambios en la eficiencia de síntesis de proteína microbiana, presentando resultados similares en ambas especies.

Objetivo general

Estudiar en bovinos y ovinos en forma comparativa el efecto sobre el ambiente ruminal y la síntesis de proteína microbiana de la inclusión de niveles crecientes de grano de sorgo cuando consumen dietas forrajeras de alta calidad.

Objetivos específicos

Estudiar el efecto sobre la dinámica de pH y amoníaco ruminal de la inclusión de distintos niveles de grano de sorgo en dietas de bovinos y ovinos consumiendo una pastura templada fresca.

Evaluar el efecto de la inclusión de distintos niveles de grano de sorgo en dietas de bovinos y ovinos consumiendo una pastura templada fresca sobre la producción de proteína microbiana en rumen.

Estudiar si la respuesta, en los parámetros antes mencionados, a la inclusión de distintos niveles de grano de sorgo en la dieta es similar en ovinos y bovinos.

Materiales y métodos

El ensayo de campo tuvo lugar la Unidad de Digestión y Metabolismo Ruminal de los Departamentos de Nutrición y Bovinos situado en el Campo Experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria, localizado en Libertad, Departamento de San José (34° Latitud Sur, 35° Longitud Oeste). El procesamiento y análisis de las muestras colectadas para las determinaciones de NH₃ se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Veterinaria (UdelaR), mientras que la determinación de derivados púricos en orina se llevó a cabo en el Laboratorio de Bromatología y Nutrición de Rumiantes de la Universidad Federal de Santa María, Río Grande del Sur, Brasil. El cuidado de los animales, la implantación de sondas ruminales y vesicales fueron realizadas siguiendo los protocolos aprobados por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (C.H.E.A), de la UdelaR, Uruguay.

Diseño Experimental

Se utilizaron 24 terneras cruzas (210 ± 42,5 kg de PV, media ± ES) y 24 capones Corriedale × Milchschaf (45,6 ± 4,6 kg de PV, media ± ES) alojados en bretes individuales. Los animales fueron bloqueados según su PV en 6 grupos de 4 animales cada uno tanto para bovinos como ovinos. Dentro de cada bloque los animales fueron asignados al azar a uno de 4 niveles de suplementación con grano de sorgo, quedando determinado así 4 grupos de 6 animales por tratamiento, por

especie (n = 6). Los niveles de suplementación estudiados fueron: T1: 0% de peso vivo (PV), T2: 0,5% de PV, T3: 1,0% de PV y T4: 1,5% de PV, en base seca.

La pastura estaba compuesta por 91% de *Lotus corniculatus*, un 5,5% de *Raigrás* y por un 3,5% de restos secos. La misma fue cortada y suministrada a los animales *ad libitum* permitiendo un 20% de rechazo por día. El sorgo se suministró molido hasta harina, 2 veces al día (8:00 y 20:00 hs), en cantidades iguales. El grano de sorgo tuvo un nivel de taninos totales de 0,80 % de la MS y un nivel de taninos condensados de 0,54 % de la MS. La composición química de la pastura y del sorgo utilizado se presenta en el Cuadro I.

Cuadro I. Composición química de la pastura y del grano de sorgo suministrados

Item	Pastura	Grano Sorgo
MS, %	31,8	91,3
Composición, % MS		
MO	93,2	98,8
N	1,98	1,02
FND	41,8	19,2
FAD	28,8	6,42
ALM	3,05	63,3
CNF	35,6	69,7

¹ALM, almidón; ² CNF, carbohidratos no fibrosos, CNF= MO - ((N × 6,25) + FND + EE).

Previo a las determinaciones se realizó un período de adaptación de 21 días donde los animales se habituaron a las condiciones experimentales y a las dietas. Durante el mismo se colocaron quirúrgicamente una sonda para muestreo de líquido ruminal a 4 animales por tratamiento y por especie. Posteriormente al período de adaptación se procedió a la determinación de la dinámica de pH y nitrógeno amoniacal en rumen (NH₃) y la síntesis de proteína microbiana en rumen.

Determinaciones y técnicas

pH y NH₃ en rumen: A través de la sonda implantada en rumen, se extrajo una muestra de líquido ruminal cada una hora durante 6 horas post-suplementación de la mañana. El pH ruminal fue medido inmediatamente después de colectada la muestra mediante un pHmetro digital (EW-05991-36, Cole Parmer, USA). Una muestra de 10 mL de líquido ruminal fue conservada sobre 10 mL de una solución de NaCl al 20% y congelada a -18°C para la posterior determinación de nitrógeno amoniacal (NH₃) mediante destilación directa de la muestra sobre tetraborato de sodio, los resultados se expresan como mg NH₃/dL de líquido ruminal.

Síntesis de Proteína Microbiana: La síntesis de proteína microbiana (SPM) fue estimada por métodos indirectos a través de la determinación de la excreción de derivados de base púricos en orina según la técnica propuesta por Chen & Gomes (1995). La totalidad de la orina emitida por los animales fue colectada y medida diariamente por 5 días en recipientes conteniendo 100 y 200 mL de H₂SO₄ al 10%

(% v/v) para ovinos y bovinos respectivamente. Una muestra de 50 mL de orina fue colectada y conservada a -18°C para su posterior análisis. Previamente a la determinación de alantoína y ácido úrico las muestras fueron descongeladas y diluidas con agua en una proporción tal que el volumen final total representara 4 y 50 L para ovinos y bovinos, respectivamente. Luego de esta dilución se confeccionó un pool por animal sobre el cual se hicieron las determinaciones. La concentración de alantoína y ácido úrico fueron determinadas por colorimetría, el ácido úrico fue determinado usando un kit comercial (LABTEST, Lagoa Santa, MG, Brasil). Para los ovinos la xantina e hipoxantina se convirtieron en ácido úrico con xantin oxidasae (Sigma, 50 unities in 2,6 ml). Los derivados púricos totales se determinaron como la suma de ácido úrico (en ovinos el ácido úrico incluye la xantina y la hipoxantina) y alantoína. La cantidad de purinas absorbidas (X , mmol/día) correspondiente a la cantidad de purinas excretadas (Y , mmol/día, considerando 158 mg/mmol de alantoína y 168 mg/mol de ácido úrico) fue calculada para los bovinos en base a la ecuación descrita por Chen & Gomes (1995): $X = Y - (0,385 PV^{0,75}) / 0,85$. Para los ovinos fue calculado como: $Y = 0,84X + (0,150 BW^{0,75} e^{-0,25X})$. El cálculo de X desde Y fue realizado por el procedimiento de Newton-Raphson, como: $X_{(n+1)} = X_n - ((0,84X + 0,150 BW^{0,75} e^{-0,25X} - Y) / (0,84 - 0,038 BW^{0,75} e^{-0,25X}))$ (Chen & Gomes, 1995). El flujo de nitrógeno microbiano a intestino fue estimado como: $N_m \text{ (g/día)} = 70X / 0,116 \times 0,83 \times 1000 = 0,727X$, asumiendo una digestibilidad de las purinas microbianas de 0,83, un contenido de nitrógeno en las purinas de 70 mgN/mmol y una relación N de purinas/N total de 0,116 (Chen & Gomes, 1995). La eficiencia de síntesis de proteína microbiana (ESPM) se determinó como los g de nitrógeno microbiano/kg de MO digestible ingerida (gNM/kgMODI).

Análisis estadísticos

Los datos de síntesis de proteína microbiana, eficiencia de síntesis de proteína microbiana, los valores medios de pH y NH_3 en rumen, en cada especie fueron comparados entre tratamientos por el procedimiento MIXED de SAS (2002) de acuerdo al modelo $Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + e_{ij}$, donde μ es la media general, T_i es el efecto fijo tratamiento, B_j el efecto aleatorio bloque y e_{ij} es el error residual. El efecto de la suplementación se estudió por contrastes ortogonales entre las medias del grupo control y la de los grupos suplementados (T_1 vs T_2 , T_3 y T_4). El efecto del nivel de inclusión de concentrado en la dieta en los grupos suplementados se estudió por regresión lineal y cuadrática utilizando el procedimiento MIXED de SAS (2002). La dinámica de pH y NH_3 en rumen se analizó por el procedimiento MIXED de SAS (2002) según el modelo $Y_{ijk} = \mu + T_i + H_j + B_k + (TxH)_{ij} + e_{ijk}$, donde μ es la media general, T_i es el efecto fijo tratamiento, H_j el efecto fijo hora, B_k el efecto aleatorio bloque, $(TxH)_{ij}$ el efecto fijo interacción tratamiento por hora y e_{ijk} es el error residual. La estructura de covarianza fue autorregresiva de orden 1. Los valores medios de las variables estudiadas fue comparada entre ambas especies por el procedimiento MIXED de SAS (2002) de acuerdo al modelo $Y_{ijk} = \mu + E_i + T(E)_{jj} + B(E)_{kk} + e_{ijk}$, donde μ es la media general, E_i es el efecto fijo especie, $T(ES)_{jj}$ es el efecto fijo tratamiento anidado en la especie, $B(E)_{kk}$ es el efecto aleatorio bloque anidado dentro de especie y e_{ijk} es el error residual. La respuesta a los distintos niveles de suplementación se comparó entre especies por comparación de regresiones de acuerdo al modelo $Y = \beta_0 + \beta_1 x_i + \beta_2 z_{O_i} + \beta_3 x_i \times z_{O_i} + \epsilon_i$ donde x_i es el nivel de suplemento, z_{O_i} es una variable fantasía codificada 1 si la especie es ovino o 0 si la especie es bovino; y testea la hipótesis nula de que los coeficientes de

regresión son similares entre especies. Diferencias significativas son declaradas cuando $P \leq 0,05$.

Resultados

En los cuadros II y III se presenta la composición química de las dietas consumidas por los bovinos y ovinos respectivamente para los diferentes tratamientos (T1; T2; T3; T4), no existieron diferencias en la composición de la dieta entre las especies para ninguno de los niveles de inclusión. La inclusión de granos de sorgo en la dieta tuvo como consecuencia el aumento de la MS, MO, ALM y CNF, y una disminución de la PB, FND, FND proveniente de forraje (FNDf) y FAD ($P < 0,001$). Por su parte, a medida que se incrementaron los niveles de suplementación, existió un aumento en los porcentajes de MS, MO, ALM y CNF, mientras que los porcentajes de N, FND, FNDf y FAD disminuyeron.

Cuadro II. Composición química, nivel de FND proveniente de forraje y porcentaje de MO digestible de las dietas consumidas por vaquillonas alimentadas en base a una pastura templada y suplementadas con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo.

	Tratamientos ^a				EEM ^b	P ^c	
	T1	T2	T3	T4		T1 vs T	L
MS	31,82	40,5	48,6	55,63	0,84	<0,001	<0,001
Composición (%MS)							
MO	93,2	94,0	94,8	95,5	0,08	<0,001	<0,001
N	1,98	1,84	1,71	1,59	0,01	<0,001	<0,001
FND	41,5	38,5	35,4	32,7	0,32	<0,001	<0,001
FNDf ^d	41,8	35,7	30,0	25,0	0,59	<0,001	<0,001
FAD	28,8	25,5	22,5	19,8	0,32	<0,001	<0,001
ALM ^e	3,05	11,9	20,1	27,2	0,85	<0,001	<0,001
CNF ^f	35,6	40,6	45,2	49,3	0,48	<0,001	<0,001
MOD ^g	63,1	68,0	68,1	70,2	1,63	0,002	0,323

^aTratamientos: T1 = Pastura sin suplementación; T2; T3; T4 = suplementados al 0,5% , 1,0% y 1,5% del PV, respectivamente. ^bError estándar de la media (n=6 por tratamiento). ^cNivel de significancia para el contraste T1 vs T = Pastura contra Suplementados. L = Efecto lineal del nivel de suplementación (incluyendo los tres grupos suplementados). ^dFNDf = Fibra Neutra Detergente proveniente de forraje. ^eALM = Almidón. ^fCNF = Carbohidratos no fibrosos, calculado como: %CNF = %MO – (%PB + %FND + %EE) ^gMOD = Materia Orgánica Digestible

Cuadro III. Composición química, nivel de FND proveniente del forraje y porcentaje de MO digestible de las dietas consumidas por ovinos alimentados con una pastura templada y suplementados con grano de sorgo molido al 0, 0,5, 1,0 y 1,5% del PV.

	Tratamientos ^a				EEM ^b	P ^c	
	T1	T2	T3	T4		T1 vs T	L
MS	31,8	39,4	49,6	58,5	1,88	<0,001	<0,001
Composición (%MS)							
MO	93,2	93,9	94,9	95,7	0,18	<0,001	<0,001
N	12,4	11,6	10,6	9,67	0,19	<0,001	<0,001
FND	41,8	38,9	35,0	31,6	0,71	<0,001	<0,001
FND ^d	41,8	36,4	29,3	23,0	1,32	<0,001	<0,001
FAD	28,8	25,9	22,1	18,7	0,71	<0,001	<0,001
ALM ^e	3,1	10,8	21,1	30,1	1,91	<0,001	<0,001
CNF ^f	35,6	40,0	45,8	50,9	1,08	<0,001	<0,001
MOD ^g	65,0	65,6	68,6	73,4	2,04	0,089	0,024

^aTratamiento: T1 = pastura sin suplemento; T2; T3; T4 = suplementado al 0,5%, 1,0% y 1,5% del PV, respectivamente; ^bError estándar de la media (n=6 por tratamiento); ^cNivel de significancia para el contraste T1 vs. T = Pastura contra Suplementado. L = Efecto lineal del nivel de suplementación (incluyendo los tres grupos suplementados). ^dFNDf = Fibra Neutra Detergente proveniente del forraje; ^eALM = Almidón; ^fCNF = Carbohidratos no Fibrosos, calculado como %CNF = %MO - ((N × 6.25) + %FND + %EE); ^gMOD = Materia Orgánica Digestible.

El cuadro IV presenta los niveles de pH y NH₃ en rumen de bovinos y ovinos alimentados en base a una pastura templada y suplementados con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo. La inclusión de concentrado en la dieta determinó una disminución en los valores medios de pH para ambas especies siendo esta caída lineal al incrementarse los niveles de concentrados en la dieta. El pH ruminal medio de los bovinos tendió a ser mayor respecto al de los ovinos (P = 0,06). La inclusión del concentrado en la dieta o el incremento en los niveles de suplementación no afectó los niveles de NH₃ en ninguna de las especies. Sin embargo los niveles de NH₃ en rumen difirieron significativamente entre ambas especies (P < 0,01).

En las figuras 1 y 2 se presenta la evolución del pH y NH₃ en bovinos durante 6 horas luego de la administración de sorgo en los diferentes niveles de suplementación y en el grupo testigo. No se encontró efecto de la hora (P = 0,450) ni interacción tratamiento por hora (P = 0,242) para el pH. En relación la dinámica de NH₃ en rumen se encontró un efecto de la hora (P < 0,001). La interacción entre tratamiento y hora no fue significativa para esta variable (P = 0,233).

En las figuras 3 y 4 se presenta la evolución del pH y NH₃ en ovinos durante 6 horas luego de la administración de sorgo en los diferentes niveles de suplementación y en el grupo testigo. Para el pH se encontró un efecto de la hora (P = 0,004), llegando a los valores mínimos a la hora 6 post suplementación. La interacción entre tratamiento y hora no fue significativa para esta variable (P = 0,206). En la dinámica de NH₃ no se encontró efecto de la hora ni interacción entre tratamiento y hora (P ≥ 0.367).

Cuadro IV. pH, NH₃ de bovinos y ovinos alimentados en base a una pastura templada (T1) y suplementados con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo (T2, T3 y T4 respectivamente)

	pH		NH ₃ (mg/dL)	
	Bovinos	Ovinos	Bovinos	Ovinos
T1	6,80	6,45	20,62	36,27
T2	6,46	6,14	20,87	35,26
T3	6,09	6,09	25,01	39,38
T4	6,17	5,52	20,74	37,63
Media ¹	6,34	6,05	21,81 ^b	37,13 ^a
EEM ²	0,17	0,17	2,40	3,15
T1 vs T2, T3 y T4 ³	0,009	0,006	0,588	0,803
L ⁴	0,035	<0,001	0,691	0,535

¹media para la especie, diferente letra entre especies P<0,01, ²error estándar de la media, ³nivel de significancia para el contraste sin suplementación vs suplementados, ⁴nivel de significancia para el efecto lineal del incremento en los niveles de suplementación.

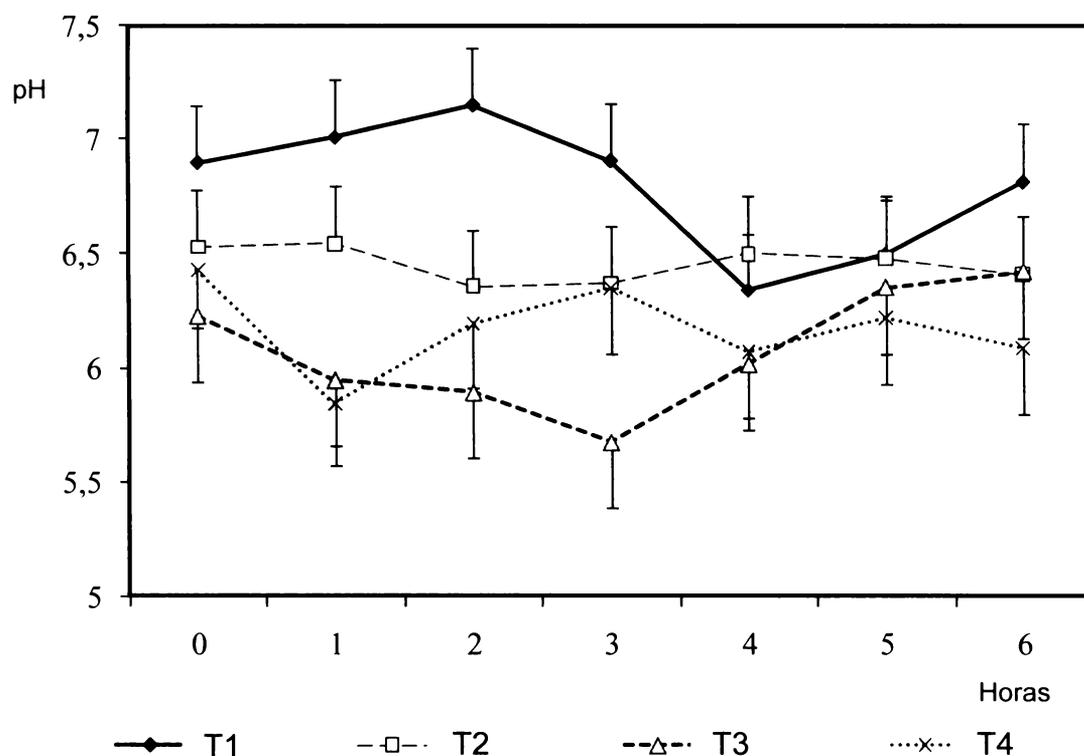


Figura 1. Evolución del pH ruminal de bovinos consumiendo una pasturas templadas de buena calidad suplementadas con sorgo en diferentes niveles (0; 0.5; 1.0; 1.5 % de PV, T1, T2, T3 y T4, respectivamente) (medias ± desvío estándar; n = 6). La hora 0 indica el momento de la suplementación. Efecto tratamiento, P = 0,035; efecto hora, P = 0,450; interacción entre tratamiento y hora, P = 0,242.

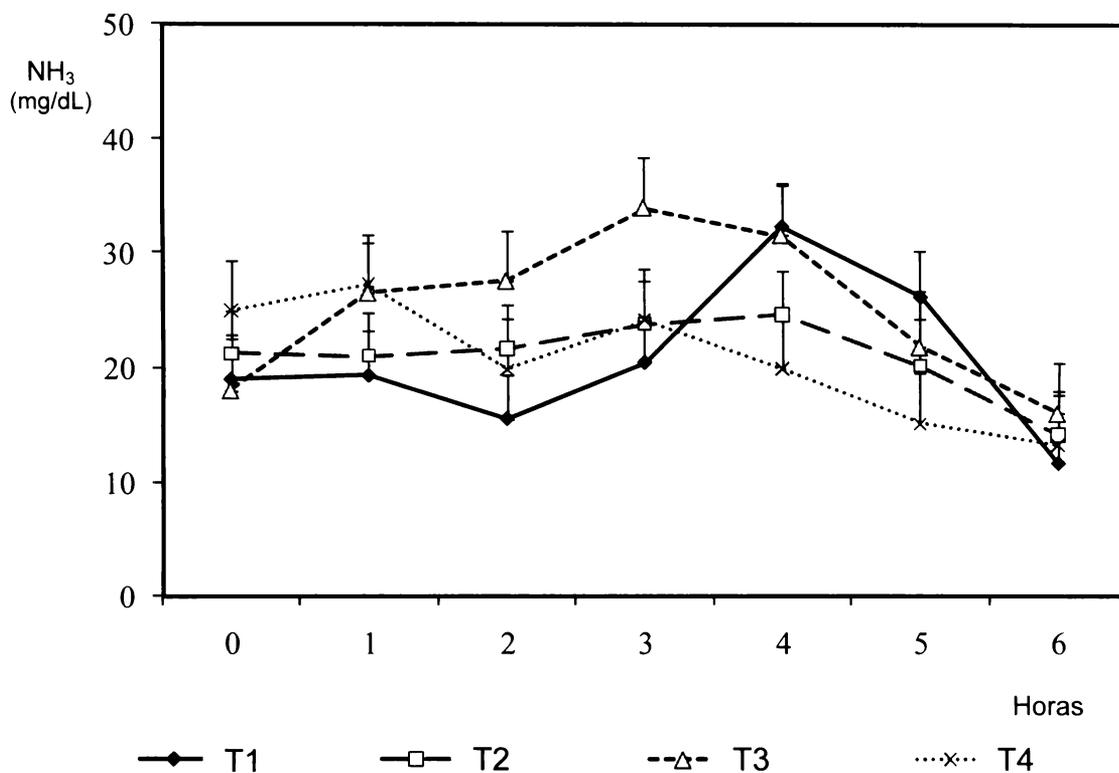


Figura 2. Evolución de la concentración de NH_3 en rumen de bovinos consumiendo una pasturas templadas de buena calidad suplementadas con sorgo en diferentes niveles (0; 0.5; 1.0; 1.5 % de PV, T1, T2, T3 y T4, respectivamente) (medias \pm desvío estándar; $n = 6$). La hora 0 indica el momento de la suplementación. Efecto tratamiento, $P = 0,616$; efecto hora, $P \leq 0,001$; interacción entre tratamiento y hora, $P = 0,233$.

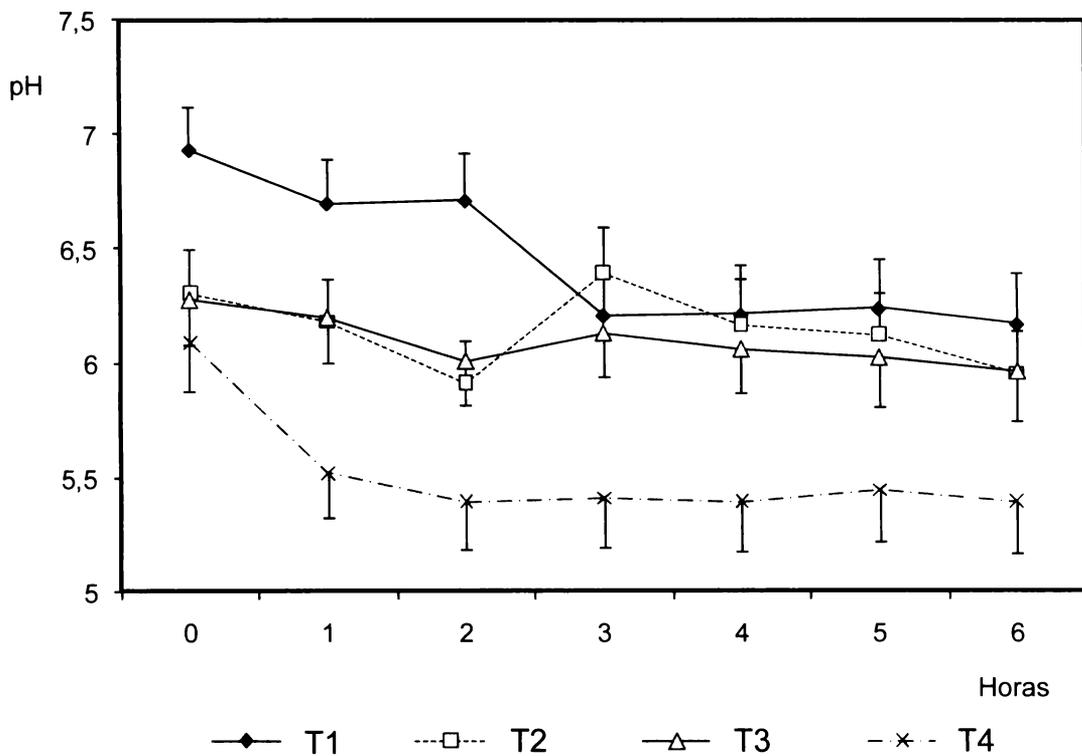


Figura 3. Evolución del pH ruminal de ovinos consumiendo una pasturas templadas de buena calidad suplementadas con sorgo en diferentes niveles (0; 0.5; 1.0; 1.5 % de PV, T1, T2, T3 y T4, respectivamente) (medias \pm desvío estándar; n = 6). La hora 0 indica el momento de la suplementación. Efecto tratamiento, P = 0,004; efecto hora, P = 0,005; interacción entre tratamiento y hora, P = 0,206.

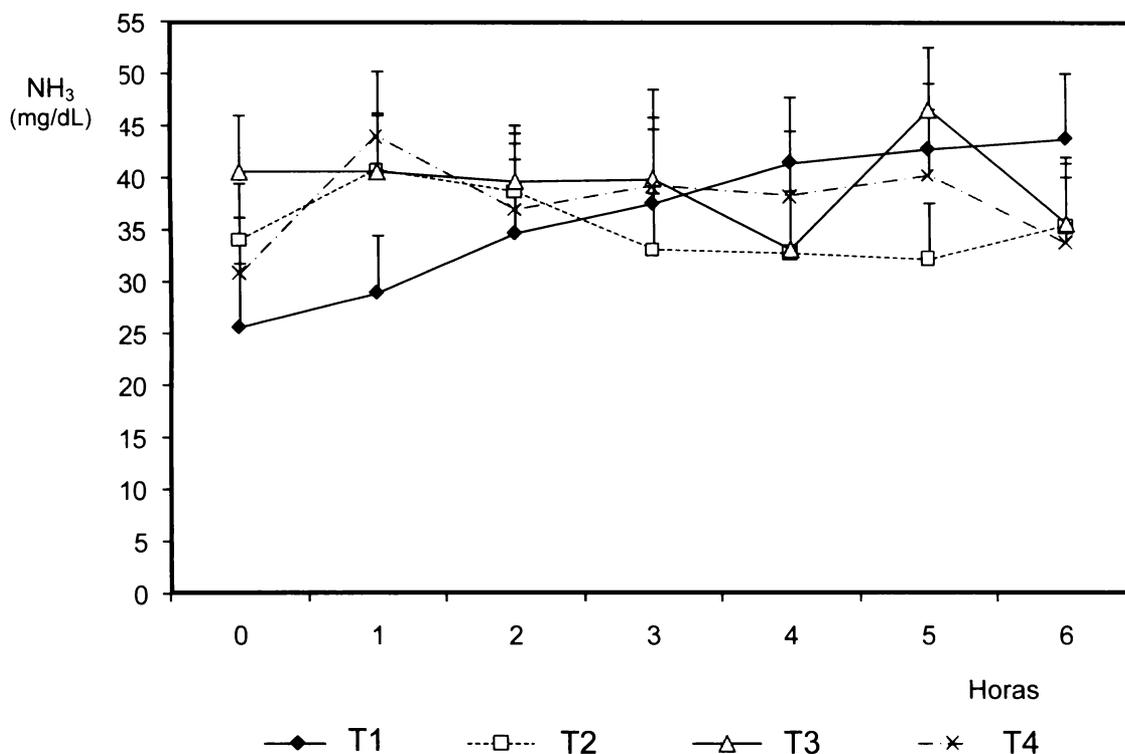


Figura 4. Evolución de la concentración de NH_3 en rumen de ovinos consumiendo una pasturas templadas de buena calidad suplementadas con sorgo en diferentes niveles (0; 0.5; 1.0; 1.5 % de PV, T1, T2, T3 y T4, respectivamente) (medias \pm desvío estándar; $n = 6$). La hora 0 indica el momento de la suplementación. Efecto tratamiento, $P = 0,835$; efecto hora, $P = 0,367$; interacción entre tratamiento y hora, $P = 0,615$.

El cuadro V presenta la síntesis de proteína microbiana (SPM; gNM/día) y eficiencia de síntesis de proteína microbiana en rumen (gNm/kgMODI) de bovinos y ovinos alimentados en base a una pastura templada y suplementados con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo. La inclusión de concentrado en la dieta determinó un aumento en la SPM en los bovinos y una caída en la SPM en los ovinos. Mientras que el aumento en los niveles de suplementación no tuvo efecto sobre esta variable en ninguna de las 2 especies. Para ambas especies la SPM se correlacionó positivamente con el consumo de MO Digestible ($r = 0,45$, $P = 0,05$ y $r = 0,58$, $P = 0,003$ para bovinos y ovinos respectivamente). Como era esperable la SPM (gNM/día) fue mayor para bovinos que para ovinos ($P < 0,01$). La inclusión de grano de sorgo en la dieta determinó una caída en la ESPM en ambas especies, sin embargo el aumento en la administración de concentrados no tuvo efecto sobre esta variable. La ESPM fue mayor en bovinos que en ovinos ($P < 0,01$), con menor eficiencia en todos los tratamientos para ovinos.

Cuadro V. Síntesis de proteína microbiana en rumen (SPM; gNM/día) y eficiencia de síntesis de proteína microbiana en rumen (gNm/kgMODI) de bovinos y ovinos alimentados en base a una pastura templada (T1) y suplementados con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo (T2, T3 y T4 respectivamente)

	SPM (gNm/día)		ESPM (gNm/kgMODI ¹)	
	Bovinos	Ovinos	Bovinos	Ovinos
T1	72,27	17,59	19,79	14,12
T2	73,10	12,68	14,83	11,62
T3	91,81	11,91	16,17	12,11
T4	84,27	10,46	15,03	9,29
Media ²	80,36 ^a	13,26 ^b	16,46 ^a	11,78 ^b
EEM ³	3,35	2,96	1,43	1,27
T1 vs T2, T3 y T4 ⁴	0,042	0,007	0,010	0,052
L ⁵	0,126	0,314	0,857	0,223

¹gramos de nitrógeno microbiano por kilogramo de materia orgánica digestible ingerida; ²media para la especie diferente letra entre especies P<0,05, ³error estándar de la media, ⁴nivel de significancia para el contraste sin suplementación vs suplementados, ⁵nivel de significancia para el efecto lineal del incremento en los niveles de suplementación.

Cuadro VI. Comparación de la respuesta a la suplementación en pH, NH₃, síntesis de proteína microbiana en rumen (SPM; gNM/día) y eficiencia de síntesis de proteína microbiana en rumen (gNm/kgMODI) de bovinos y ovinos alimentados en base a una pastura templada y suplementados con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo. Si bien existieron diferentes efectos entre las especies, al incorporar niveles crecientes de concentrados energéticos, en ambas especies (bovinos y ovinos) la SPM se correlacionó positivamente con CMOD en bovinos (r = 0,45, P = 0,05) y ovinos (r= 0,58, P= 0,003).

Item	Respuesta a la suplementación		P ¹
	Bovinos	Ovinos	
pH Ruminal	y=6,73-0,6X; R ² =0,22 P<0,001	y=6,46-0,55X; R ² =0,34 P<0,001	0,477
NH ₃ (mg/dl)	y=20,37+1,52X; R ² =0,01, P=0,341	y=36,74+0,76X; R ² =0,001, P=0,709	0,767
SPM (gMN/d)	y=71,6+10,2X; R ² =0,26, P=0,020	y=16,5-4,43X; R ² =0,28, P=0,010	<0,010
ESPM (gMN/kgDOMI)	y=18,4-2,70X; R ² =0,20, P=0,050	y=13,9-2,80X; R ² =0,21, P=0,020	0,954

¹nivel de significancia de la comparación de regresiones entre especies

En el cuadro VI se presenta la comparación de la respuesta a la suplementación en pH, NH₃, síntesis de proteína microbiana en rumen (SPM; gNM/día) y eficiencia de síntesis de proteína microbiana en rumen (gNm/kgMODI) de bovinos y ovinos

alimentados en base a una pastura templada y suplementados con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo. Si bien tanto para el pH, el NH_3 ruminal y la ESPM los valores medios fueron diferentes entre especies, el incremento del nivel de inclusión de grano de sorgo en la dieta determinó una respuesta similar en bovinos y ovinos (Cuadro VI Figuras 5, 6 y 8). Contrario a lo esperado la SPM presentó una respuesta diferente para cada especie, donde el efecto de la adición de los diversos niveles de concentrados ocasionó un aumento lineal en la SPM para bovinos mientras que para ovinos sucedió lo contrario (Cuadro VI, Figura 7).

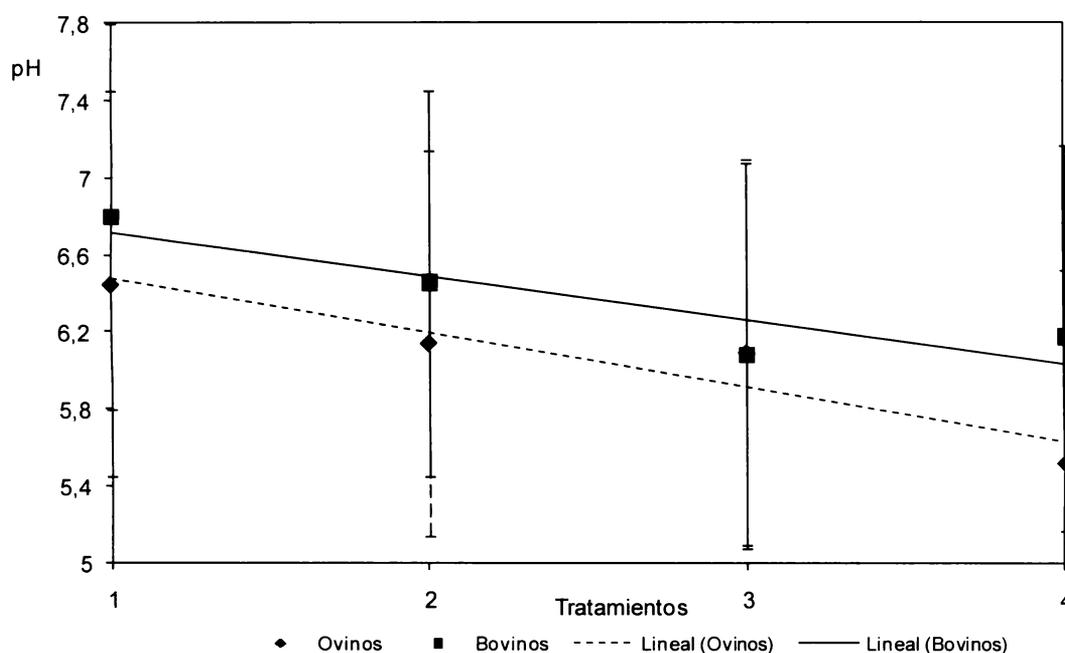


Figura 5. pH ruminal de bovinos y ovinos consumiendo dietas en base a pasturas templadas de buena calidad suplementados con distintos niveles de grano de sorgo (0; 0.5;1.0;1.5 % de PV) (medias \pm error estándar; n = 4).

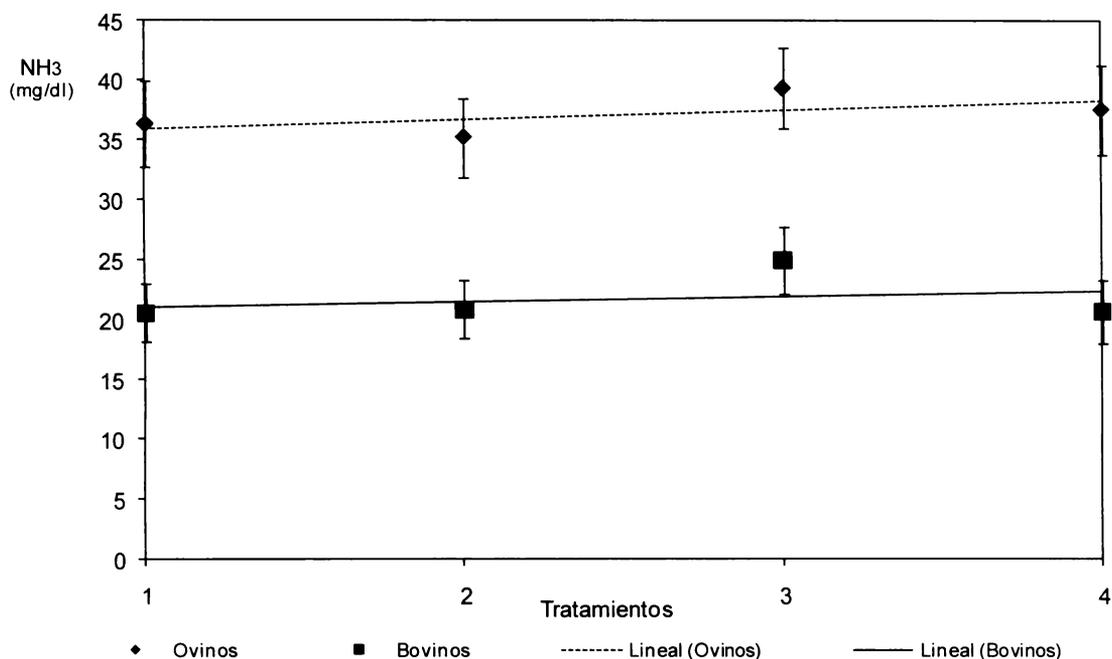


Figura 6. NH₃ (mg/dl) ruminal de bovinos y ovinos consumiendo dietas en base a pasturas templadas de buena calidad suplementados con distintos niveles de grano de sorgo (0; 0.5;1.0;1.5 % de PV) (medias ± error estándar; n = 4).

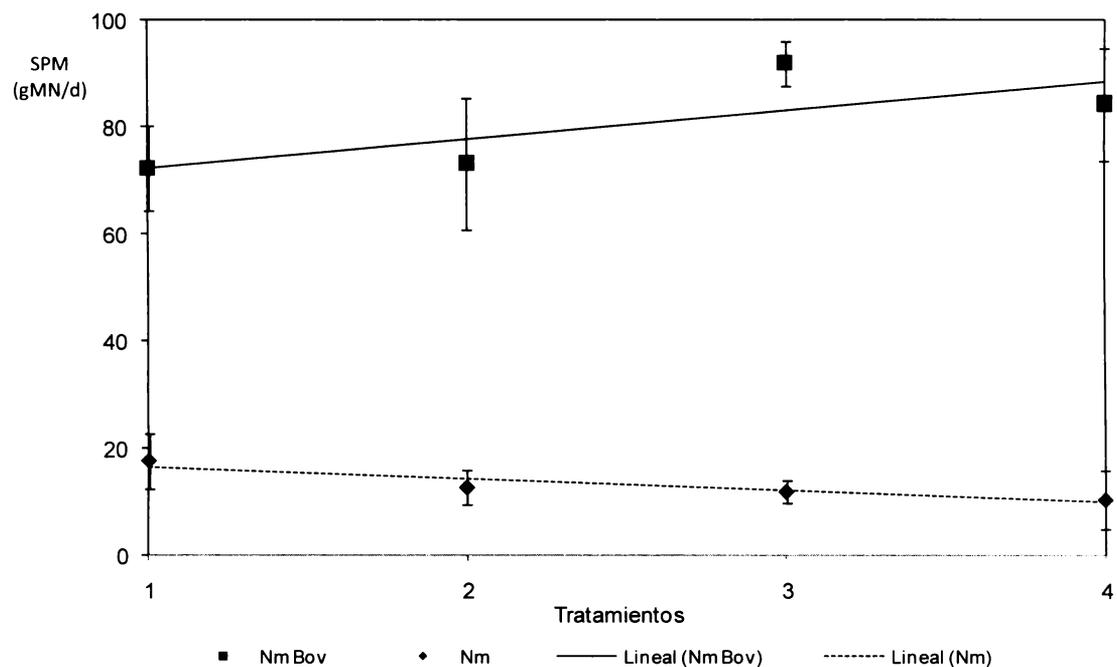


Figura 7. SPM (gMN/d) ruminal de bovinos y ovinos consumiendo dietas en base a pasturas templadas de buena calidad suplementados con distintos niveles de grano de sorgo (0; 0.5; 1.0;1.5 % de PV) (medias ± error estándar; n = 6).

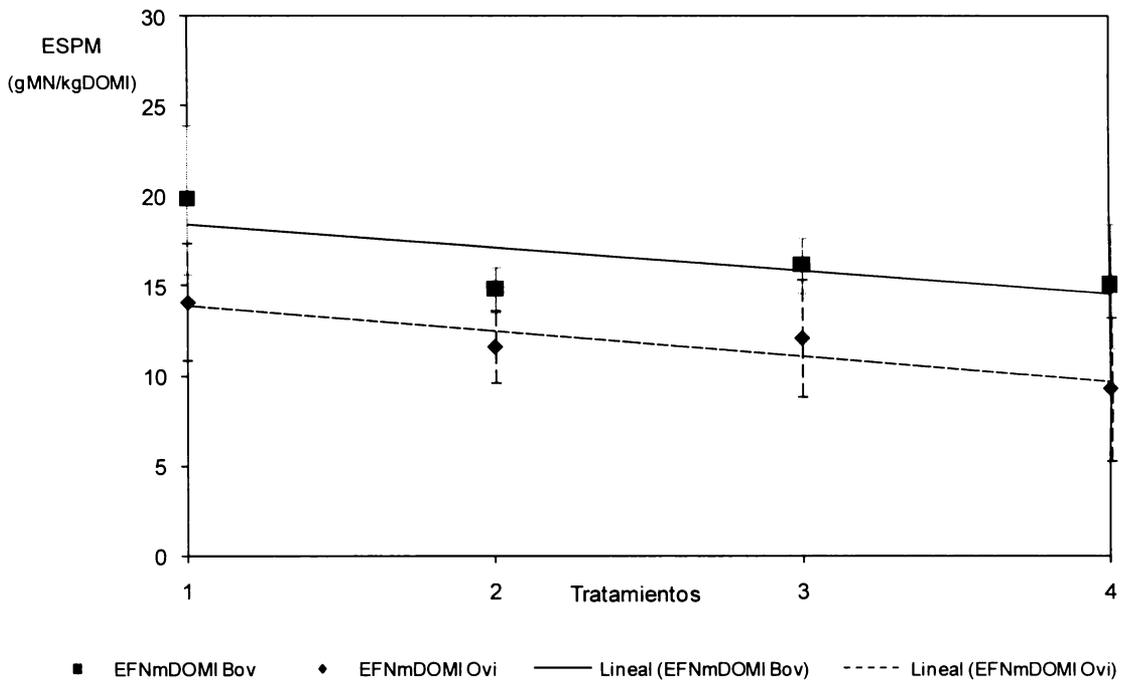


Figura 8. ESPM (gMN/kgDOMI) ruminal de bovinos y ovinos consumiendo dietas en base a pasturas templadas de buena calidad suplementados con distintos niveles de grano de sorgo (0; 0.5; 1.0;1.5 % de PV) (medias \pm error estándar; n = 6)

Discusión

Nitrógeno amoniacal

En nuestro ensayo, en el T1, en lo referente a bovinos, se encontró como era previsible, dentro de los rangos normales citados por otros autores. Mientras que en los ovinos, no sucedió lo mismo, observándose que las concentraciones de NH_3 se situaron por encima de dicho rango. Los distintos autores en referencia a las concentraciones medias de NH_3 (mg/dL) ruminal de bovinos y ovinos, que consumen dietas en base a pasturas templadas de buena calidad, reportan valores que se sitúan entre 6-30 mg/dL (Di Marco y Aello 2002; Nápoli y Santini, 1988). Los trabajos realizados en nuestro país, con rumiantes pastoreando praderas implantadas de gramíneas y leguminosas, reflejan que las concentraciones ruminales de NH_3 son elevadas (20,1 mg/dL, en promedio) y, por lo tanto, no serían la limitante para el crecimiento microbiano y una correcta actividad celulolítica (Repetto et al., 2001).

Al incorporar concentrados energéticos a las dietas no sucedió lo esperado en ambas especies y en todos los tratamientos, ya que las concentraciones de NH_3 se mantuvieron constantes, en vez de existir un descenso como citan la mayoría de los autores (Elizalde et al., 1999; Berzaghi et al., 1996; Van Vuuren et al., 1993; Merchen y Titgeneryer, 1992; Reis y Combs (2000). Teóricamente estos valores altos en la concentración de NH_3 que se producen en las dietas en base a pasturas templadas de buena calidad podrían verse reducidas por la incorporación de concentrados energéticos, debido a que los CHO aportan la energía suficiente para poder lograr una mayor eficiencia en la captación de N en la dieta, proporcionando un mayor número de aminoácidos a los rumiantes y reduciendo así las pérdidas de N como NH_3 en el rumen (Merchen y Titgeneryer, 1992.; Bargo ., 2002). Reis y Comb 2000, trabajando con vacas Holando las cuales consumían pasturas de trébol rojo y alfalfa, suplementadas con niveles crecientes de maíz seco (0; 5; 10 kg de MS) reportaron que a medida que se incrementó la inclusión de grano, disminuyó la concentración de amoníaco ruminal. Otra explicación de por qué disminuiría la concentración de amoníaco ruminal a lo hora de incorporar concentrado energético sería por un menor consumo de forraje debido a la sustitución del forraje por concentrado energético, provocando así, la caída de consumo de N, teniendo como consecuencia menores aportes de proteína degradable y concomitantemente disminución en el amoníaco ruminal (Elizalde et al., 1999; Berzaghi et al., 1996; Van Vuuren et al., 1993).

La información recabada a través de nuestro ensayo concuerda con los resultados obtenidos en el trabajo de investigación de Tebot, (2008); quien evaluó el efecto de la inclusión de granos energéticos en pasturas de buena calidad en ovinos sometidos a tres tratamientos, los cuales consistían de: 100% forraje; 70% forraje y 30% grano de cebada; 70% forraje, 15% grano de cebada y 15% melaza; no registrándose diferencias significativas en la concentración media de amoníaco para ninguno de los 3 tratamientos bajo estudio, atribuyendo esto a un mecanismo fisiológico de reciclaje de urea, que acontece en los rumiantes. En nuestro ensayo no existieron diferencias en los distintos tratamientos para las distintas especies. Esto podría verse explicado debido a las bajas concentraciones de N alimentario manejadas en nuestro ensayo que pudieron modificar el ciclo de la urea

cuantitativamente, es así que la inclusión del concentrado en la dieta llevó a una depresión en la eliminación por vía renal de nitrógeno (datos no incluidos en la tesis, Assandri y col. , 2010; Aguerre, 2010), lo que podría acompañarse de un mayor reciclaje de nitrógeno hacia el rumen ya que una parte de la urea formada en el hígado es eliminada con la orina pero otra parte retorna al retículo-rumen con la saliva y por difusión directa a partir de la sangre, que irriga la pared de los pre-estómagos, difundándose desde la sangre a la luz del órgano gracias a un gradiente de concentración. Existe entonces en los rumiantes, un verdadero ciclo de la urea que forma parte de los procesos digestivos normales que mueve cantidades importantes de N con el fin de ser reutilizado en el rumen, para la síntesis de proteína microbiana, esto podría explicar que las concentraciones de amoníaco se mantengan constantes. Comparando los resultados obtenidos en nuestro estudio podríamos afirmar la existencia de un reciclaje de NH₃ para ambas especies.

pH ruminal

Pitt et al. (1996), marca un pH promedio de 6,2 como el umbral mínimo por debajo del cual el crecimiento de los microorganismos que realizan la digestión de los CHOE están deprimidos. Se ha demostrado tanto *in vitro* (Terry y col., 1969; Stewart, 1977; Hilth y Dhority, 1983), como *in vivo* (Moldes y Orskov, 1983), que el pH óptimo para la digestión microbiana de la fibra, oscila entre 6,6 y 7; coincidiendo con los valores obtenidos en nuestro ensayo, para ambas especies consumiendo pasturas templadas de buena calidad. Según estudios realizados (Van Vuuren y col., 1993, Stockdale, 1994, Carruthers y col., 1997, O'Mara y col., 1997; Kolver y col., 1998) en vacas lecheras alimentadas con forraje de buena calidad, se obtuvo una media diaria de pH ruminal de 5,6 a 6,4. Mientras que Pérez, (2006) en ovinos que consumían pasturas templadas de buena calidad, pero de manera restringida, observó una disminución en el pH ruminal post-ingesta, llegando a valores mínimos de 5,6 y 5,4 en los pastoreos de la mañana y tarde respectivamente.

En nuestro ensayo, se evidenció que al incorporar concentrado energético a las dietas en base a pasturas templadas, tanto en bovinos como en ovinos, se reportó una disminución lineal en el pH, concordando con lo expuesto por Elizalde y col. (1999a), Bargo y col. (2002), Sairanen y col. (2005) y Cajarville y col. (2006). Con la incorporación de concentrado a la dieta se produjo un aumento en cantidad de CHNE los cuales se fermentan rápidamente, pudiendo llevar a un aumento en la concentración de ácidos grasos volátiles ocasionando así la caída del pH en ambas especies. Si bien el mayor nivel de concentrado en las dietas provocó una disminución lineal en el valor medio de pH ruminal, estos valores se encuentran próximos a los señalados como óptimos para una correcta actividad celulolítica en rumen, para el caso de los bovinos (Hoover, 1986; Van Soest, 1994). Mientras que para los ovinos se registraron valores por debajo en los suplementados, con respecto a los mencionados por Molde y Orskov (1983); para una correcta actividad celulolítica en rumen.

Los valores de pH ruminal fueron más bajos en ovinos que bovinos, esto podría deberse a que los ovinos tienen una mayor tasa de ingestión que los bovinos y una menor tasa de masticación ingestiva (www.uco.es/organizar), esto trae como consecuencia un menor aporte de saliva al rumen. En nuestro ensayo ovinos y bovinos tuvieron similar digestibilidad de la MO ($72,10 \pm 0,98$ vs $71,41 \pm 1,00$, $P =$

0,635 respectivamente) el incremento en los niveles de inclusión de sorgo en la dieta aumentó de manera similar esta variable en ambas especies (Aguerre y col., 2011). Sin embargo la digestibilidad aparente del almidón fué mas alta en ovinos, que en bovinos ($97,20 \pm 0,65\%$ vs $89,02 \pm 0,67\%$; datos sin publicar, no incluidos en esta tesis). A su vez el incremento en la inclusión de concentrado en la dieta afectó de manera diferente la digestibilidad del almidón en ambas especies ($P < 0,001$), mientras en los bovinos el incremento en los niveles de suplementación determinó una caída lineal en la digestibilidad del almidón ($P < 0,001$), en los ovinos la digestibilidad del almidón no varió con el incremento en los niveles de suplementación ($P = 0,172$) (datos sin publicar, no incluidos en esta tesis). En base a estos datos se podría atribuir que la mayor digestibilidad del almidón podría ser la explicación a los menores valores de pH ruminal encontrados en los ovinos.

Esta diferencia en la digestibilidad del almidón podría ser explicada a diferencias en el tránsito digestivo en ambas especies (Colucci y col., 1990). Colucci y col. (1990), reportaron que en los ovinos con el aumento del suministro de concentrados, existe un mayor tiempo de retención de la fase líquida con respecto a los bovinos, llevando a que los microorganismos tengan mayor tiempo para poder degradar el almidón en el rumen debido a su mayor permanencia en el mismo, esto podría determinar una marcada proliferación de los microorganismos que lo fermentan (flora amilolítica), lo que puede llevar a la producción de grandes cantidades de AGV y como consecuencia la disminución en el pH.

Otro factor a tener en cuenta en las diferencias encontradas en el pH de ambas especies podría deberse al comportamiento observado en nuestro ensayo, donde los ovinos a la hora de consumir el forraje presentaron mayor selectividad, consumiendo mayor proporción de hojas con respecto a tallos en las primeras horas de la ingesta.

Síntesis de proteína microbiana

En nuestro ensayo observamos que la inclusión de concentrados energéticos en niveles crecientes (0,5, 1,0 y 1,5 % de PV) en dietas a base de pasturas templadas de los bovinos llevó a un aumento en la SPM presumiblemente debido al aumento en el consumo de MO (datos no incluidos en la tesis, Aguerre, 2010) coincidiendo con lo expuesto por Sairanen y col., (2005). Mientras que para los ovinos los resultados que obtuvimos no fueron los esperados, repercutiendo negativamente la inclusión del concentrado energético en la SPM, posiblemente debido a que la inclusión del grano en la dieta llevó a una disminución en el consumo de MO (datos no incluidos en la tesis, Assandri y col., 2010). Dichos resultados coincidieron con lo expuesto por Sairanen y col. (2005), Clark y col. (1992) que sugieren que la forma de aumentar la SPM en rumiantes que consumen pasturas templadas es por medio del aumento del consumo de MO total y de MOD. Sin embargo, ensayos realizados por Berzaghi y col. (1996) y García y col. (2000), en animales alimentados con pasturas de buena calidad y suplementados con concentrados energéticos no reportan cambios en la SPM cuando se suplementó, lo que probablemente este asociado a que el consumo de MO no varió entre los distintos tratamientos. No obstante, Elizalde y col. (1999) mencionó que si bien a la hora de suplementar con niveles crecientes de concentrados energéticos se aumentó el consumo de MO, no se encontraron cambios en la SPM en rumen.

En base a nuestros resultados, podríamos afirmar que la variación en la ESPM respondió fundamentalmente a cambios en el consumo de MO y en la ESPM que baja con la incorporación del concentrado a la dieta.

En lo referido a la ESPM el ARC (1984), plantea un valor promedio de 30g N/kg MODR para ovinos; mientras que para bovinos, para tener un óptimo crecimiento microbiano en rumen se debería aportar en la dieta 22,7g de N disponible/kgMOVDR (Johnson y Bergen 1982). En este sentido, en bovinos observamos, que en los T1 la ESPM se encuentra cercana a los valores de referencia citados por Johnson y Bergen 1982, no siendo así para el caso de los ovinos donde los valores encontrados distan de los reportados por ARC (1984). A su vez comparando con otros ensayos realizados en rumiantes consumiendo pasturas templadas (Van Vuuren y col. 1993; Elizalde y col. 1999), observamos que los datos obtenidos en nuestro estudio concuerdan con los mismos.

Ensayos realizados por Elizalde y col. (1999b); García y col. (2000), en rumiantes consumiendo pasturas de alta calidad no encontraron diferencia en la ESPM a medida que se fue aumentando los niveles de los concentrados energéticos, mientras que en nuestro ensayo con el aumento de los niveles de concentrados se vio afectada negativamente la ESPM tanto en bovinos como en ovinos. Esta disminución en la ESPM a la hora de incorporar granos a dietas a base de pasturas templadas de buena calidad podría ser debido diversos a factores, uno de ellos podría ser que la energía aportada con el concentrado no se encuentra en sincronía con el N de la pastura o que la energía aportada por el grano no se utiliza con la misma eficiencia que la aportada por el forraje para la captación del NH_3 y SPM en rumen (Tebot, 2008). Otra explicación de porque pudo suceder esto en nuestro ensayo, es el posible efecto que los taninos del sorgo pueden tener sobre la degradación de los alimentos, teniendo en cuenta que se pueden formar complejos indigestibles con proteína y almidón (Doudou y col. 2003), asociados al posible efecto tóxicos que pueden presentar sobre los microorganismos ruminales (Reed, 1995). Otro factor a considerar en la disminución de la ESPM puede verse explicado por una posible disminución en nutrientes como azufre y fósforo (Egaña y col. 1986), a la hora de incorporar niveles crecientes de concentrados energéticos. Estas teorías podrían reflejar el similar comportamiento de bovinos y ovinos en lo referente a ESPM a la hora de incorporar concentrados energéticos.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten concluir que las dietas compuestas por pasturas templadas de buena calidad aportan un equilibrio de nutrientes para el crecimiento microbiano en rumen que no se logra con la incorporación de grano de sorgo en la dieta. O bien, que la energía aportada por los granos no se encuentra en sincronía con el N aportado por la pastura, debido a que el sorgo es de lenta degradación.

Conclusión

La inclusión de niveles crecientes de grano de sorgo en la dieta determinó, una caída similar del pH para las dos especies, siendo los valores medios menores en los ovinos. Los niveles de NH_3 en rumen no variaron entre tratamientos siendo los valores medios mayores en los ovinos respecto a los bovinos, la ESPM cayó de manera similar entre ambas especies, sin embargo los bovinos tuvieron mayores valores medios que los ovinos. La SPM aumentó en bovinos, mientras que en ovinos disminuyó. Dado estos resultados bovinos y ovinos no deberían usarse como modelos similares de investigación en nutrición de rumiantes, ni deben manejarse con iguales niveles de suplementación.

Bibliografía

1. Agricultural and Food Research Council A.F.R.C (1992). Nutritive requirements of ruminant animals: protein. *Nutr Abstr Rev series B*; 62:787-835.
2. Aguerre, M.; Cajarville, C.; Repetto, J.L. (2011). Response to increased sorghum grain supplementation levels: Comparison between cattle and sheep. *J. Anim. Sci.* Vol. 89, E-Suppl. 1/*J. Dairy Sci.* Vol. 94, E-Suppl. 1
3. Aguerre, M.A. (2010). Suplementación con grano de sorgo a vaquillonas consumiendo una pastura templada: efecto sobre el consumo, el aprovechamiento digestivo y el metabolismo de la glucosa. Tesis de maestría, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay. 57p
4. Agricultural Research Council A.R.C. (1984). The nutrient ruminant livestock supplement 1. Slough, UK, Commonwealth Agric Bureaux, 351p.
5. Assandri L, Cabrera A, Gonzalez A (2010). Consumo, digestibilidad y balance de nitrógeno en ovinos alimentados con forraje templado y suplementados o no con diferentes niveles de grano de sorgo Tesis de grado, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 27p.
6. Bach, A.; Calsamiglia, S.; Stern, M.D. (2005). Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 88 (E. Suppl.): 9–21.
7. Bargo, F.; Muller, L.D.; Delahoy, J.E.; Cassidy, T.W. (2002). Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. *J. Dairy Sci.* 85:1777–1792.
8. Bargo, F.; Muller, L.D.; Kolver, E.S.; Delahoy, J.E. (2003). Production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. *J. Dairy Sci.* 86:1-42.
9. Berzaghi, P.; Herbein, J.H.; Polan, C.E. (1996). Intake, site and extent of nutrient digestion of lactating cows grazing pasture. *J. Dairy Sci.* 79: 1581-1589.
10. Bowman, J.G.P., Sanson, D.W. (1996). Starch or fiber based supplements for grazing ruminants. En: M. B. Judkins F. T. Czech *J. Anim. Sci.*, 54, 2009 (11): 481-489.
11. Bines, J.A.; Davey, A.W.F. (1970). Voluntary intake, digestion, rate of passage, amount of material in the alimentary tract and behaviour in cows receiving complete diets containing straw and concentrates in different proportions. *Br. J. Nutr.* 24:1013.
12. Branine, M.E.; Galyean, M.L. (1990). Influence of grain and monensin supplementation on ruminal fermentation, intake, digesta kinetics and incidence and severity of frothy bloat in steers grazing winter wheat pasture. *J Anim. Sci.* 68:1139-1150.
13. Branine, M.E.; Galyean, M.L. (1985). Influence of supplemental grain on forage intake, rate of passage and rumen fermentation in steers grazing summer blue grama rangeland. *Proc. West. Sect. Am. SOC. Anim.Sci.* 36:290.
14. Bryant, M.P. (1973). Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. *Fed Proc*; 32: 1809-1813.
15. Cajarville C, Curbelo A, Errandonea N, Alonso M, Aguerre M, Repetto J.L. (2000). Efecto 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: XXI Congreso Mundial de Buiatría, Punta del Este, Uruguay, p146.
16. Cajarville, C.; Aguerre, M.; Repetto, J.L. (2006). Rumen pH, NH₃-N concentration and forage degradation kinetics of cows grazing temperate pastures and supplemented with different sources of grain. *Anim. Res.* 55:511-520.

17. Carruthers, V.R.; Neil, P.G.; Dalley, D.E. (1997). Effect of altering the non-structural: structural carbohydrate ratio in a pasture diet on milk production and ruminal metabolites in cows in early and late lactation. *Anim. Sci.* 1997;64:393-402.
18. Caton, J.S.; Dhuyvetter D.V. (1997). Influence of energy supplementation on grazing ruminants: requirements and responses. *Anim. Sci.* 1997. 75:533-542. J
19. Chen, H.; Gomez, M. J. (1995). Effect of Supplementation of Straw Based Diets on the Digestibility. *World Journal of Agricultural Sciences* 4 (6): 745-751, 2008.
20. Church, D.C. (1979). Digestive physiology and nutrition of ruminants. Vol. 1. Digestive Physiology 2a.ed. O&B Books, Corvallis, OR. fed increasing quantities of corn grain. *J. Anim. Sci.* 65:557-566.
21. Ciavarella, T.A.; Dove, H.; Leary, B.J.; Simpson, R.J. (2000). Diet selection by sheep grazing *Phalaris aquatica* L. pastures of differing water-soluble carbohydrate content. *Australian J. Agric.* 51:757-764.
22. Colucci, P.; Macleod G.W.; Groum, W.L.; McYillanil, Barney, D.J. (1990). University of Guelph Guelph, ON, Canada N1G 2W1 Digesta Kinetics in Sheep and Cattle Fed Diets with Different Forage to Concentrate Ratios at High and Low Intakes. *J Dairy Sci.* 73:2143-2156
23. Colucci, P.E.; Macleod, G.K.; Grovum, W.L.; Cahill, L.W.; McMillan. (1989). University of Guelph Guelph, Ontario, Canada N1G 2W1 Comparative Digestion in Sheep and Cattle Fed Different Forage to Concentrate Ratios at High and Low Intakes. *J Dairy Sci.* 72:1774-1785
24. Clark, J.H.; Klusmeyer, T.H.; Cameron, M.R. (1992). Symposium Nitrogen metabolism and aminoacid nutrition in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 75:2304-2323.
25. Delahoy JE, Muller LD, Bargo F, Cassidy TW, Holden LA. (2003). Supplemental Carbohydrate Sources for Lactating Dairy Cows on Pasture. *J Dairy Sci* 86:906-15.
26. Dewhurst, R.J.; Moorby, J.M.; Dhanoa, M.S.; Evans, R.T.; Fisher, W.J. (2000). Effects of altering energy and protein supply to dairy cows during the dry period. 1. Intake, body condition, and milk production. *J. Dairy Sci.* 83: 1782-1794.
27. Ministerio de Ganadería Agricultura Pesca. Uruguay. Dirección de Estadísticas Agropecuarias D.I.E.A (2009a). Anuario estadístico agropecuario 2009...Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,85,O,S,0,MNU;E;27;5>; MNU. Fecha de consulta: 21/07/2011.
28. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Uruguay. Dirección de Estadísticas Agropecuarias D.I.E.A (2009b). Encuesta agrícola invierno 2009, Serie encuestas N° 279.,. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,85,O,S,0,MNU;E;27;5;MNU>. Fecha de consulta: 21/07/2011.
29. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Uruguay. Dirección de Estadísticas Agropecuarias D.I.E.A (2008a). Anuario estadístico agropecuario 2003..Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,27,O,S,0,MNU;E;2;16;10;6;MNU>. Fecha de consulta: 21/07/2011.
30. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Uruguay. Dirección de Estadísticas Agropecuarias D.I.E.A (2008b). Encuesta agrícola invierno 2008, Serie encuestas N° 279. Disponible en

- <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,85,O,S,0,MNU;E;27;5;MNU>.
Fecha de consulta: 21/07/2011.
31. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Uruguay Dirección de Estadísticas Agropecuarias, D.I.E.A (2003a). Anuario estadístico agropecuario 2003.. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,27,O,S,0,MNU;E;2;16;10;6;MNU>. Fecha de consulta: 21/07/2011.
32. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Uruguay. Dirección de Estadísticas Agropecuarias, D.I.E.A (2003b). Encuesta agrícola invierno 2003, Serie encuestas N° 279 Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,85,O,S,0,MNU;E;27;5;MNU>. Fecha de consulta: 21/07/2011.
33. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Uruguay. Dirección de Estadísticas Agropecuarias, D.I.E.A (2001a). Anuario estadístico agropecuario 2003. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,27,O,S,0,MNU;E;2;16;10;6;MNU>. Fecha de consulta: 21/07/2011.
34. . Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Uruguay. Dirección de Estadísticas Agropecuarias, D.I.E.A (2001b). Encuesta agrícola invierno 2008, Serie encuestas N° 279 Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,85,O,S,0,MNU;E;27;5;MNU>. Fecha de consulta: 21/07/2011.
35. Di Marco ON, Aello MS, Nomdedeu M, Van Houtte S (2002). Effect of maize crop maturity on silage chemical composition and digestibility (in vivo, in situ and in vitro).
36. Dixon, R. M.; Stockdale, C.R (1999). Associative effects between forages and grains: consequences for feed utilization. *Aust. J. Agric. Res.* 50:757–773.
37. Doudu, K.G.; Taylor, J.R.N.; Belton, P. S.; Hamker, B. R. (2003). Factors affecting sorghum protein digestibility. *J.Cereal Sci.*38:117-131.
38. Dukes (1999). Fisiología en animales domésticos. Mexico Limusa. p.387-399
39. Egaña, M.; Morales, J.I.; Maria Sol,S. (1986). Metabolismo del nitrógeno en rumiantes. Monografía Medico Veterinario 8(2). Disponible en: www.revistas.uchile.cl
40. 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. *Anim Feed Sci. Technol*; 64: 245-255.
41. Elizalde, J.C.; Merchen, N.R.; Faulkner, D.B. (1999a). Supplemental cracked corn for steers fed fresh alfalfa: I. Effects on digestion of organic matter, fiber, and starch. *J. Anim. Sci.* 77:457-466.
42. Elizalde, J.C.; Merchen, N.R.; Faulkner, D.B. (1999b). Supplemental cracked corn for steers fed fresh alfalfa: II. Protein and amino acid digestion. *J. Anim. Sci.* 77:467–475.
43. García, S.C.; Santini, F.J.; Elizalde, J.C. (2000). Sites of digestion and bacterial protein synthesis in dairy heifers fed fresh oats with or without corn or barley grain. *J. Dairy Sci.* 83:746–755.
44. Gehman AM, Bertrand JA, Jenkins TC, Pinkerton BW. (2006). The Effect of Carbohydrate Source on Nitrogen Capture in Dairy Cows on Pasture. *J. Dairy Sci.* 89:2659-2667.

45. Gosselink, J.M.; Poncet, C.; Dulphy, J.P.; Cone, J.W. (2003). Estimation of the duodenal flow of microbial nitrogen in ruminants based on the chemical composition of forages: a literature review. *Anim. Res.* 52: 229-243.
46. Graveros, I.E (2003). Cultivos sorgos graníferos. Disponible en <http://www.producción.com.ar/2003/03ago-10.htm>. Fecha de consulta: 21/3/08.
47. Heldt, J.S.; Cachran, R.C.; Mathis, C.P.; Woods, B.C.; Olson, K.C.; Titgemeyer, E.C.; Nagaraja, T.G.; Vanzant, E.S.; Johnson, D.E. (1999). Effects of level and source of carbohydrate and level of degradable protein on intake and digestion of low-quality tall-grass-prairie hay by beef steer. *J Anim Sci*; 77: 2846-2854.
48. Henning, P.A.; Linden, Y.V.; Mattheyse, M.E.; Nauhaus, W.K.; Schwartz, H.M.; Gilchrist, F.M.C. (1980). Factors affecting the intake and digestion of roughage by sheep fed maize straw supplemented with maize grain. *J. Agric. Sci. (Cambridge)* 94: 565-573.
49. Henning, P.H.; Stein, D.G.; Meissner, H.H.(1993). Effect of synchronization of energy and nitrogen supply on ruminal characteristics and microbial growth. *J Anim Sci*; 71: 2516-2528.
50. Hoover WH, Stokes SR (1991). Balancing Carbohydrates and Proteins for Optimum Rumen Microbial. *J. Dairy Sci.* 74:3630-3644.
51. Hoover WH (1986). Chemical factors involved in Rumenal Fiber Digestión Chemical Factors. *J. Dairy Sci.* 74:2755-2766.
52. Hristov, A.N.; McAllister, T.A.; Cheng, K.J. (1997). Effect of carbohydrate level and ammonia availability on utilization of alpha-amino nitrogen by mixed ruminal microorganisms in vitro. *Proc West Sect Am Soc Anim Sci*; 48: 186-189.
53. Hungate, R.E. (1966). The rumen and its microbes. New York. Academic Press, 533p.
54. Dirección de Información y Análisis Económico. Instituto Nacional de Carne I.N.A.C (2001). Informe estadístico año agrícola julio 2000 – junio 2001. Disponible en http://www.inac.gub.uy/innovanet/macros/Home_2_4P.jsp?contentid=3119&version=1&channelid=1. Fecha de consulta: 23/07/2009.
55. Dirección de Información y Análisis Económico, Instituto Nacional de Carne I.N.A.C. (2011). Informe estadístico año agrícola julio 2010 – junio 2011. Disponible en http://www.inac.gub.uy/innovanet/macros/Home_2_4P.jsp?contentid=3119&version=1&channelid=1. Fecha de consulta: 23/07/2009.
56. Instituto Nacional de la Leche I.N.A.L.E (2011). Disponible en <http://www.inale.org/inovaportal/file/782/1>. Fecha de consulta: 25/07/2009
57. Nutrient requirements of dairy cattle N.R.C (2001). Ed. National Academy Press, 7° ed. Washington D.C., USA.
58. Isaacson, H.R., Hinds, F.C., Bryant, M.P.; Owens, F.N (1975). Efficiency of energy utilization by mixed rumen bacteria in continuous culture, *J. Dairy sci* 58:1645.
59. Johnson, D.E., W.G.Bergen. (1982). Fraction of organic matter digestion occurring in the rumen: a partial literature summary Pages 113–127
60. Kaufmann, W., Hagemeister, H., Dirksen, G. (1980). Adaptation to changes in dietary composition, level and frequency of feeding. En: Ruckebusch, Y., Thivend, P. Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants. AVI Publishing . Westport, CT. p.587-593.

61. Kaufmann, W. (1976). The influence of the composition of the ration and the feeding frequency on pH regulation in the rumen and feed intake in ruminants. *Livestock Prod. Sci.* 3:103-114.
62. Kennedy, D. W.; Bunting, L. D. (1992). Effects of starch on ruminal fermentation and detergent fibre digestion in lambs fed Bermuda grass hay. *Anim. Feed Sci. Technol.* 36: 91-100.
63. Kolver E.S., Muller L.D. (1998). Performance and nutrient intake of high producing holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 81:1403-1411.
64. Kozloski GV, Nettoa DP, Bonnacarrère Sancheza LM, Lima L D, Cadorin Júnior RL, Fiorentinia G, Härter CJ. (2006). Nutritional value of diets based on a low-quality grass hay supplemented or not with urea and levels of cassava meal. *Anim. Feed Sci. Technol.* 125,111-122.
65. 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 stress grazing blue grama rangeland. *J. Anim. Sci.* 67:3040-3051.
66. McGilloway, D. A.; Mayne, C.S. (1996). The importance of grass availability for the high genetic merit dairy cow. in *Recent Advances in Animal Nutrition*. P. C. Garnsworthy, J. Wiseman, W. Haresign, (ed). Nottingham Univ. Press. p135.
67. Matos (2008). Uruguay: El éxodo de la agricultura familiar.
68. Merchen, N. R.; Titgemeyer, E.C. (1992). Manipulation of amino acid supply to the growing ruminant. *J. Anim. Sci.* 70:3238-3247.
69. Mertens, D. R.; Ely, L.O. (1982). Relationship of rate and extent of digestion to forage utilization—a dynamic model evaluation. *J. Anim. Sci.* 54:895.
70. Moir, R. J.; Somers, M. (1957). Ruminal flora studies. VIII. The influence of rate and method of feeding a ration upon its digestibility, upon ruminal function, and upon the ruminal population. *Aust. J. Agric. Res.* 8:253-265.
71. Mould, F.L.; Orskov, E.R. (1983). Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in Sacco, dry matter degradation and the rumen micro flora of sheep offered either hay or concentrate. *Anim. Feed Sci. Technol.* 10: 1-14.
72. Newbold, J.R.; Rust, S.R. (1992). Effect of asynchronous nitrogen and energy supply on growth of ruminal bacteria in batch culture. *J. Anim. Sci.* 70:538-546.
73. Nikkhah, A.; Alikhani, M.; Amanlou H. (2004). Effects of Feeding Ground or Steam-Flaked Broom Sorghum and Ground Barley on Performance of Dairy Cows in Mid lactation. *J. Dairy Sci.* 87:122-130
74. Nocek, J.E.; Russell J.B. (1988). Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *J. Dairy Sci.* 71:2070-2107.
75. O'Connor, J.D.; Sniffen C.J.; Fox D.G.; Chalupa, W. (1993). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: IV. Predicting amino acid adequacy. *J. Anim. Sci.* 71:1298-1311.
76. O'Mara, F.P.; Stakelum, G.K.; Dillon, P.; Murphy, J.J.; Rath, M. (1997). Rumen fermentation and nutrient flows for cows fed grass and grass supplemented with molassed beet pulp pellets. *J. Dairy Sci.* 80, 2466-2474.
77. Owens F.N. y Goetsch A.L. (2008). Ruminal Fermentation.

78. Oyhantçal, W.; Mila, F.; Frugoni, G (2009). Comportamiento del sector carne vacuna en 2009 y perspectivas para 2010. Anuario OPYPA 2009. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/opypa/PUBLICACIONES/Publicaciones.htm>.
79. Pérez-Ruchel, A. (2006). PH, amoníaco, ácidos grasos volátiles y producción de proteína microbiana en rumen de corderos, según el horario de corte de la pastura consumida. Tesis de Grado, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
80. Pitt, R.E.; van Kessel, J.S.; Fox, D.G.; Pell, A.N.; Barry, M.C.; Van Soest, P.J. (1996). Prediction of ruminal volatile fatty acids and 773 pH within the net carbohydrate and protein system. *Journal of Animal Science* 74: 226-244.
81. Playne, M.J. (1978). Differences between cattle and sheep in their digestion and relative intake of a native tropical grass hay. *Anim. Feed Sci. Tech- nol.* 3:41.
82. Poppi, D.P.; Won, D.J.; Ternouth J.H. (1980). Studies of cattle and sheep eating leaf and stem fractions of grasses. I. The voluntary intake, digestibility and retention time in the reticulo-rumen. *AWL J. Agric. Res.* 32:99.
83. Pordomingo, A.J.; Wallace J.D.; Freeman, A.S.; Galyean, M.L. (1991). Supplemental corn grain for steers grazing native rangeland during summer. *J Anim. Sci* 69:1678-1687.
84. Rearte, D.H.; Santini, F.J. (1989). Digestión ruminal y producción en animales a pastoreo. *Rev Arg Prod Anim*; 9: 93.
85. Reed, J.D. (1995). Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *J. Anim. Sci.* 73:1516-1528.
86. Reis RB, Combs DK. (2000). Effects of Increasing Levels of Grain Supplementation on Rumen Environment and Lactation Performance of Dairy Cows Grazing Grass-Legume Pasture. *J.Dairy Sci* 83:2888-2898.
87. Remond D, Ortigues I, Jouany JP. (1995). Energy substrates for the rumen epithelium.
88. Repetto, J.L.; Aguerre, M.; Alonso, M.; Curbelo, A.; Errandonea, N.; Cajaville, C. (2001) Concentración de amoníaco ruminal en vacas en pastoreo suplementadas con diferentes granos. VII Congreso Nacional de Veterinaria, 19 al 22 de noviembre 2001, Montevideo, Uruguay.
89. Riquelme CA, Pulido RG. (2008). Effect of the level of concentrate supplementation on the voluntary intake and feeding behavior of dairy cows on spring grazing. *Arch. Med. Vet.* 40, 469-472.
90. Rodriguez, M.N.; Tebot, I.; Le Bas, A.; Nievas, C.; Leng, L.; Cirio, A (1996). Renal function and urea handling in pregnant and lactating Corriedale Intakes ewes. *Can. J. Anim. Sci.* 76: 469-472
91. Russell J.B.; Dombrowski D.B. (1980). Effect of pH on the efficiency of growth of pure cultures of rumen bacteria in continuous culture. *Appl Environ Microbiol*; 39: 604-609.
92. 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. *J. Dairy Sci*; 66: 763.
93. Russell, J.B.; Hespell, R.B. (1981). Microbial rumen fermentation. *J Dairy Sci*; 64:1153-1169.
94. Sairanen, A.; Khalili, H.; Nousiainen, J.L.; Ahvenjarvi, S.; Huhtanen, P. (2005). The effect of concentrate supplementation on nutrient flow to the omasum in dairy cows receiving freshly cut grass. *J. Dairy Sci.* 88:1443–1453.

95. Sanson, D.W.; Clanton, D.C.; Rush, I.G. (1990). Intake and digestion of low quality meadow hay by steers and performance of cows on native range when fed protein supplements containing various levels of corn. *J. Anim. Sci.* 68:595-603.
96. Sauvant, D.; Grenet, E.; M-Doreau, B. (1995). Dégradation chimique des aliments dans le réticulo-rumen: cinétique et importance. Disponible en: <http://books.google.com.uy/books>. Fecha de consulta: 27/09/2010.
97. Schwartzkopf-Genswein, K. S.; Beauchemin, K. A.; Gibb, D.J.; Crews, D.H.; Hickman, D.D.; Streeter, M.; McAllister, T. A (2003). Effect of bunk management on feeding behavior, ruminal acidosis and performance of feedlot cattle: A review. *J. Anim.Sci.* 81(E Suppl. 2):E149–E158.
98. Silanikove, N.; Nitsan, Z.; Perevolotsky, A. (1994). Effect of a daily supplementation of polyethylene glycol on intake and digestion of tannin-containing leaves (*Ceratonia siliqua*) by sheep. *J. Agric. Food Chem.* 42, 2844–2847.
99. Stewart, C.D (1977). Factors affecting the cellulolytic activity of rumen contents. *Appl. Environ. Microbiol.* 33, 497–502.
100. Stockdale, C. R (1994). Persian clover and maize silage. I. Silage as a supplement for lactating dairy cows offered herbage of different quality. *Aust. J. Agric. Res.* 45:1751–1765.
101. Stock, R.A.; Britton, R.A. (1993). Acidosis in Feedlot Cattle. In: Scientific Update on Rumensin/Tylan for the Professional Feedlot Consultant. Elanco Animal Health, Indianapolis, IN. p A_1.
102. Strobel, H.J.; Russell, J.B. (1986). Effect of pH and energy spilling on bacterial Protein synthesis by carbohydrate- limited cultures of mixed rumen bacteria. *J Dairy Sci*; 69: 2941-2947
103. Tamminga, S. (1993). Influence of feeding management on ruminant fiber digestibility. En, H. G. Jung, D. R. Buxton, R. D. Hatfield, and J. Ralph (Ed.) *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*. pp 571-602.
104. Tebot I. (2008). Efecto de los suplementos ricos en energía sobre la función Ruminal y el metabolismo del nitrógeno en ovinos alimentados con pasto fresco. MSc Tesis. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
105. Tebot, I.; Faix, S.; Szanyiova, M.; Cirio A.; Leng, L. (1998) Micropuncture study on urea movements in the kidney cortical tubules of low protein fed sheep. *Vet. Res.*, 29:99-105.
106. Van Soest P.J (1994). *Nutritional ecology of the ruminant*. 2^a ed. New York. Cornell University. P.476.
107. Van Vuuren, A.M.; Van Der Koelen, C.J.; Vroonede Bruin, J. (1993). Ryegrass Versus corn starch or beet pulp fiber diet effects on digestion and intestinal amino acids in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:2692-2700.
108. Van Vuuren, A.M.; Tamminga, S.; Ketelaar R.S. (1991). In sacco degradation of organic matter and crude protein of fresh grass (*Lolium perenne*) in the rumen of grazing dairy cows. *J. Agric.Sci.* 116:429–439.
109. Terry, R.A.; Tilley, J.M.A.; Outen, G. E. (1969). Effect of pH on cellulose digestion under in vitro conditions. *Jour. Sci. Food Agric.* 20, 317.20.
110. Wedekind, K.J.; Muntifering, R.B.; Barker, K.B. (1986). Effects of diet concentrate level and sodium bicarbonate on site and extent of forage fibre digestion in the gastrointestinal tract of wethers. *Jour. Anim. Sci.* 62:1388-1395.