



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL LÍQUIDO RUMINAL DE VAQUILLONAS
ALIMENTADAS CON ENSILAJE DE PASTURA Y SUPLEMENTADAS CON
DIFERENTES CONCENTRADOS ENERGÉTICOS MEDIANTE LA PRODUCCIÓN
DE GAS *IN VITRO*”**

por

Leandro MAGALLANES RAMIREZ

TESIS DE GRADO presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de Doctor en
Ciencias Veterinarias
ORIENTACIÓN: Higiene, inspección, control y
tecnología de los alimentos de origen animal

MODALIDAD Ensayo Experimental

MONTEVIDEO
URUGUAY
2012

PÁGINA DE APROBACIÓN:

Presidente de Mesa: _____
Ing. Agr. Alejandro Mendoza

Segundo Miembro (Tutor): _____
Dr. Alejandro Britos

Tercer Miembro: _____
Ing. Agr. Ana Inés Trujillo

Co-tutor: _____
Dra. Cecilia Cajarville

Fecha: 13 de diciembre del 2012

Autor: _____
Leandro Magallanes

AGRADECIMIENTOS:

A Alejandro y Cecilia.

A mis amigos y compañeros en el trabajo experimental.

A todo el personal del Campo Experimental N°2 de la Facultad de Veterinaria.

A los demás integrantes del departamento de Nutrición Animal.

A mis padres y hermanos.

A mis abuelos y familia en general.

A Karina, por su respaldo incondicional.

A mis amigos de la vida.

A PEDECIBA (Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas)-Biología y el Fondo Clemente Estable de ANII (Agencia Nacional de Investigación e Innovación) por la financiación del proyecto.

TABLA DE CONTENIDO

<u>PÁGINA DE APROBACIÓN:</u>	2
<u>AGRADECIMIENTOS:</u>	3
<u>LISTA DE FIGURAS Y CUADROS</u>	5
<u>RESUMEN</u>	6
<u>SUMMARY</u>	7
<u>INTRODUCCIÓN</u>	8
<u>REVISIÓN BIBLIOGRAFICA</u>	9
<u>DIGESTIÓN RUMINAL</u>	9
<u>ENSILAJE DE PASTURA DE ALTA CALIDAD</u>	11
<u>SUPLEMENTACIÓN</u>	12
<u>SUPLEMENTACIÓN CON CASCARILLA DE SOJA</u>	13
<u>PRODUCCIÓN DE GAS <i>IN VITRO</i></u>	14
<u>Análisis de los Resultados Obtenidos a partir de la Técnica de Producción de</u> <u>gas <i>in vitro</i></u>	16
<u>HIPÓTESIS</u>	17
<u>OBJETIVOS</u>	17
<u>OBJETIVO GENERAL</u>	17
<u>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</u>	17
<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	17
<u>ANIMALES DONANTES Y DISEÑO EXPERIMENTAL</u>	17
<u>PRODUCCIÓN DE GAS <i>IN VITRO</i></u>	18
<u>ANÁLISIS QUÍMICOS</u>	20
<u>ANÁLISIS ESTADÍSTICOS:</u>	20
<u>RESULTADOS</u>	21
<u>DISCUSIÓN</u>	22
<u>CONCLUSIONES</u>	24
<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	25

LISTA DE FIGURAS Y CUADROS

<u>Figura 1.</u> Cinética de producción de gas (ml) en función de tiempo (h) obtenido por el modelo exponencial simple con tiempo de latencia.....	16
<u>Cuadro 1.</u> Composición química de los alimentos utilizados.....	18
<u>Cuadro 2.</u> Composición del medio de incubación libre de N.....	19
<u>Cuadro 3.</u> Efectos principales simples del líquido ruminal de vaquillonas alimentadas con ensilaje de pastura de alta calidad como único alimento o suplementadas con cascarilla de soja, cebada o maíz sobre la producción potencial de gas y el tiempo de latencia de la producción de gas <i>in vitro</i> de forrajes o concentrados.	21
<u>Cuadro 4.</u> Efectos del líquido ruminal de vaquillonas alimentadas con ensilaje de pastura de alta calidad como único alimento o suplementadas con cascarilla de soja, cebada o maíz y del sustrato incubado sobre la tasa fraccional de producción de gas <i>in vitro</i>	21

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad fermentativa de líquidos ruminales provenientes de vaquillonas alimentadas con ensilaje de pastura de alta calidad como único alimento o suplementadas con cascarilla de soja, maíz o cebada al 1% de su PV (peso vivo). La actividad fermentativa de los diferentes líquidos ruminales fue determinada sobre dos tipos de sustratos (forrajes o concentrados) mediante un ensayo de producción de gas *in vitro*. 6 vaquillonas Hereford fueron asignadas al azar a cada dieta, luego de 21d de adaptación a las dietas 60ml de fluido ruminal fueron recolectados individualmente. El fluido ruminal de los animales que consumieron la misma dieta fue mezclado y utilizado como inóculo. Se secaron y se incubaron 0.5g de sustrato en frascos de fermentación de 125mL y se agregó 40.5mL de medio de incubación libre de N. Cada frasco fue inoculado con 10mL de la mezcla de líquidos ruminales. Los datos de volumen de gas fueron ajustados a un modelo exponencial simple con tiempo de latencia. Los resultados fueron analizados utilizando PROC MIXED de SAS[®], las medias de los inóculos y los sustratos fueron separadas por LSMEANS y el efecto simple del inóculo fue analizado usando la opción SLICE. Las diferencias entre los inóculos de las vaquillonas suplementadas con cascarilla de soja, maíz o cebada no fueron significativas sobre los forrajes, pero fueron evidentes cuando los concentrados fueron utilizados como sustrato. El inóculo de los animales suplementados con cebada presentó un inicio rápido y una corta actividad fermentativa mientras que el inóculo de los animales no suplementados mostro los más altos valores de producción de gas y tiempo de latencia. La suplementación con cascarilla de soja o maíz ocasionó respuestas similares a pesar de su composición química.

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the fermentation activity of rumen fluids from heifers fed silage of high quality pasture as sole feed or supplemented with soybean hulls, corn or barley at 1% of BW (body weight). We determined the fermentative activity of the different rumen fluids over two types of substrates (forages or concentrates) by means of an *in vitro* gas production trial. 6 Hereford heifers were randomly assigned to each diet, after 21d of adaptation to the diets 60ml of rumen fluid was individually collected. Rumen fluids from the animals consuming the same diet was mixed and used as inoculums. Substrates were dried and incubated (0.5g) into 125mL fermentation flasks and a total volume of 40.5mL of N-free medium was added. Each flask was inoculated with 10mL of mixed rumen fluid. The gas volume data were fitted to a simple exponential model with lag time. The data were analyzed using SAS[®] PROC MIXED; inoculum and substrates averages separated by LSMEANS and the simple main effect of inoculum was analyzed using the SLICE option. Differences between the inocula of heifers supplemented with soybean hulls, corn or barley were not significant over forages, but were evident when concentrates were used as substrates. Inoculum from animals supplemented with barley had a rapid onset and short fermentation while the inoculum from non-supplemented animals led to the highest gas production and lag time. Supplementation with corn and soybean hulls produced similar responses regardless of its chemical composition.

INTRODUCCIÓN

El país cuenta con un área terrestre total de 17,6 millones de ha, de las cuales 16,4 se dedican a distintos rubros agropecuarios. Cuenta con un stock bovino de 11.100.000 de cabezas de ganado bovino y 7.700.000 de ovinos. El 17,1% del total de la superficie destinada a pastoreo son mejoramientos forrajeros, representando 2.804.000 ha incluyendo campos mejorados y fertilizados, praderas artificiales y cultivos forrajeros anuales. La superficie dedicada a la agricultura es de 1.160.000 ha produciendo aproximadamente 286.200 ton de maíz, 186.400 ton de cebada y 1.541.000 ton de soja (DIEA, 2011).

Los forrajes que se cultivan en áreas templadas del mundo son los alimentos que más contribuyen a la producción mundial de alimentos provenientes de los rumiantes (Elizalde, 2003). En la región los sistemas de producción animal son básicamente pastoriles, pero además dependen de la suplementación estratégica con concentrados (Rearte y Santini, 1989). La calidad del forraje, cuando es el principal alimento, es quizás el factor más importante en la productividad de los rumiantes (Van Soest, 1994). Así, los cambios en la calidad y cantidad de las pasturas pueden ser superados mediante el empleo de suplementos, aumentando la ingestión total de MS y la ingestión de energía y proteína (Bargo y col., 2001). Cuando se alimenta a los rumiantes con pasturas templadas de alta calidad la sustitución parcial del forraje fresco por alimentos ricos en energía (como los granos de cereales) también ha sido utilizada como herramienta para mejorar la performance animal (Elizalde y Santini, 1992). Sin embargo, la suplementación de dietas forrajeras con granos ocasiona efectos asociativos que tienen importantes consecuencias sobre el ambiente ruminal y la performance animal (Dixon y Stockdale, 1999).

La alimentación con subproductos de la cosecha y el procesamiento de alimentos para el ganado es una práctica tan antigua como la domesticación de los animales por los humanos (Bampidis y Robinson, 2006). La cascarilla de soja (CS) es uno de estos subproductos, que se ha catalogado como un concentrado energético fibroso. Además de aumentar la ingesta de energía como los granos de cereales, pero más barato, evita la disrupción de la funcionalidad del rumen (Ipharraguerre y col., 2003).

Si bien varios autores han destacado la importancia de la suplementación y de la calidad del forraje, la información sobre la interacción de suplementos con forrajes de alta calidad es escasa y frecuentemente no es coincidente. Además, el tipo de concentrado es uno de los factores del suplemento que afecta la performance animal. Así, este trabajo pretende generar información sobre la capacidad fermentativa de ambientes ruminales generados por la suplementación con diferentes concentrados a un forraje de alta calidad.

REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

DIGESTIÓN RUMINAL

La digestión en los rumiantes es el resultado neto de una secuencia de procesos que ocurren en diferentes segmentos del tracto gastrointestinal. Esta secuencia incluye: una fermentación de los componentes de la dieta por microorganismos en el retículo-rumen, una hidrólisis ácida y degradación enzimática en el abomaso e intestino, y una segunda fermentación en el ciego y en el intestino grueso (Merchen y col., 1997). El sitio principal de digestión es el rumen, donde el alimento es retenido por periodos de tiempo sustanciales y sometido a una extensa fermentación microbiana bajo condiciones anaeróbicas (Beever y Mould, 2000). De esa manera, la estrategia alimentaria de los rumiantes se basa en la simbiosis establecida entre los microorganismos ruminales (m.o.) y el huésped (McDonald, 2006). Diversas características del retículo-rumen proporcionan un sistema de cultivo continuo para la microbiota. Una de ellas es la capacidad de mantener un pH normal en el rumen que oscile entre 6,2 y 7,0 (Calsamiglia y Ferret, 2002; Kamra, 2005). Esta variación resulta del equilibrio entre la producción de ácidos en la fermentación, la rapidez de absorción de los mismos y el aporte de fosfatos y bicarbonatos provenientes de la saliva que actúan como tampones. Otra característica del medio ruminal es tener una temperatura estable entre 38 y 42°C, debido al metabolismo corporal y al calor generado por la propia fermentación ruminal. La humedad es otra característica fundamental del retículo-rumen debido a la gran cantidad de agua libre proveniente del agua de bebida, salivación y alimentación. A su vez, se mantiene un ambiente anaerobio como consecuencia del rápido consumo de oxígeno que ingresa al rumen (McDonald, 2006).

La microbiota del rumen es muy diversificada y es la responsable de la gran eficiencia de los rumiantes para utilizar una amplia gama de alimentos. Esta población microbiana es estable y dinámica al mismo tiempo, estable ya que está bien establecida y ha llevado a cabo la bioconversión del alimento en AGV y dinámica por que la población microbiana cambia considerablemente con los cambios de la dieta (Kamra, 2005). Se ha observado que el número y proporciones relativas de las distintas especies que habitan el rumen están influidos principalmente por la dieta (Yokohama y Johnson, 1988). Además, existen sinergismos y antagonismos entre diferentes grupos de m.o. y el resultado neto de esas reacciones que ocurren en el rumen es responsable de la bioconversión de los alimentos en compuestos que son utilizables por el animal como fuente de energía (AGV). Así, estas interacciones son importantes para mantener un equilibrio que ayuda en la actividad fermentativa óptima (Kamra, 2005). Las dietas a base de forraje, ricas en celulosa y con un contenido intermedio en azúcares solubles estimulan la acción de bacterias celulolíticas y sacarolíticas y las dietas ricas en almidón aumentan la actividad de las bacterias amilolíticas (Owens y Goetsch, 1988). Las bacterias celulolíticas que degradan carbohidratos estructurales tienen bajos requerimientos de mantenimiento, crecimiento lento, y utilizan NH_3 como principal fuente de N, mientras que las bacterias amilolíticas que degradan carbohidratos no estructurales, tienen mayores requerimientos de mantenimiento, rápido crecimiento, utilizan NH_3 , péptidos, y AA como fuentes de N (Bach y col., 2005). Es así que, la microbiota ruminal puede ser considerada como el órgano metabólicamente más adaptable (Mackie y White, 1990).

En general la alimentación de los rumiantes se basa principalmente en forrajes, los cuales presentan en su composición altos porcentajes de carbohidratos estructurales (McDonald, 2006). De estos carbohidratos que representan la mayor parte de la pared celular de los vegetales, la celulosa es el que más abunda en la naturaleza. Además las membranas de las células vegetales contienen compuestos íntimamente asociados como la hemicelulosa, que son menos resistentes que la celulosa a la acción de los ácidos. Las pectinas son carbohidratos que forman parte de la membrana celular, sin embargo tras la extracción del material vegetal con solución neutro detergente, las pectinas son solubilizadas y forman parte de la fracción soluble de la célula (Fahey y Berger, 1988).

Luego de la hidratación del alimento ingerido, las enzimas microbianas rompen los polisacáridos complejos (celulosa y hemicelulosa) de la dieta, los cuales son los principales componentes de las paredes celulares (Beever y Mould, 2000). Posteriormente se obtienen monosacáridos los cuales son fermentados intracelularmente obteniendo productos finales característicos como AGV, CO₂, CH₄ y masa microbiana (Van Soest, 1994). Además, para la óptima fermentación ruminal de los alimentos es necesario un tiempo de permanencia de éstos en el órgano suficiente como para asegurar la degradación de las paredes celulares vegetales por los microorganismos, los cuales deben recibir aportes equilibrados de N y energía en forma de carbohidratos (Calsamiglia y Ferret, 2002).

Las condiciones ruminales ideales para la degradación ruminal de carbohidratos estructurales y la síntesis de proteína microbiana están caracterizadas por un pH entre 6,7 - 6,8, una concentración de NH₃ de al menos 5-8 mg/dl y de AGV de 75-90 mMol/l, con una relación acético/propiónico de 3,5/1 (Rearte, 1992; Van Soest, 1994). La fermentación ruminal de forrajes fibrosos en un estado avanzado de maduración genera perfiles de AGV con una elevada concentración de ácido acético. Los forrajes en un estadio más temprano de maduración tienden a producir cantidades algo menores de ácido acético y mayores de ácido propiónico. De ahí que el grado y tipo de transformación de los alimentos en el rumen determina el rendimiento productivo del animal (Mackie y White, 1990).

Una dieta alta en forrajes produce un pH ruminal elevado, ya que induce a una gran actividad en la rumia y alta producción de saliva, promoviendo una fermentación acética. Un alto nivel de concentrado determinará un pH bajo, lo que promoverá una alta producción de ácido propiónico y láctico (Kaufmann, 1976).

La fermentación de carbohidratos no fibrosos tales como azúcares, almidón o fibra soluble, difieren en las características de la digestión y en los perfiles de los ácidos orgánicos producidos (Strobel y Russell, 1986). La digestión del almidón en el tracto digestivo de los rumiantes tiene una gran influencia en las diversas respuestas digestivas de los animales. Es necesario estimar con precisión la cantidad de almidón degradado en el rumen, debido a que los valores de almidón degradado presentan especial interés en la formulación de la dieta (Offner y col., 2003). La fermentación ruminal del almidón determina en gran medida su valor nutritivo para los rumiantes y el suministro de proteína microbiana (Herrera-Saldaña y col., 1990). Se ha descrito que existe una relación negativa entre la cantidad de almidón ruminal degradado y pH ruminal (Sauvant, 1997). Esta reducción en el pH ruminal inhibe la digestión de fibra (Mould y Orskov, 1983). Grant y Mertens (1992) sugirieron que una abrupta reducción en el pH de 6,2 a 5,8 puede inhibir las bacterias celulolíticas. Además de la depresión de la digestibilidad de la fibra, la rápida tasa de degradación

del almidón puede afectar la fermentación ruminal y la síntesis de la proteína microbiana (Ørskov, 1986).

ENSILAJE DE PASTURA DE ALTA CALIDAD

La productividad en rumiantes está determinada por el consumo de materia seca, la cantidad de nutrientes digestibles de la misma y la eficiencia con que estos nutrientes son utilizados y transformados en productos (Rearte y Santini, 1989). Las pasturas constituyen la fuente de alimentación más económica para los rumiantes, por lo cual es fundamental potenciar la eficiencia con que el forraje es cosechado y transformado en producto final (Gómez, 1997). Es por eso, que la calidad de las pasturas es una característica imprescindible a tener en cuenta para evaluar la productividad de los rumiantes cuando la misma es el principal alimento (Van Soest, 1994). Según Santini (2002) las pasturas de alta calidad presentan 70% de digestibilidad y 18% de PB. A su vez la degradación ruminal es más rápida en forrajes más tiernos que en forrajes más groseros, en hojas que tallos y en leguminosas que gramíneas (Van Soest, 1994).

Las pasturas de clima templado suelen tener altos niveles de proteína bruta y bajos niveles de carbohidratos no estructurales solubles (Elizalde y Santini, 1992). A mayor calidad de la pastura, menor contenido de fibra y mayor contenido de carbohidratos solubles, lo que resulta en un menor pH ruminal (Rearte y Santini, 1989). La digestibilidad de los forrajes no sólo depende de su etapa de madurez sino también del proceso de digestión que se produce en el rumen. La digestión de la fibra en el rumen dependerá de la tasa de digestión, que se verá afectada por la actividad bacteriana, así como el tiempo de retención en ese compartimiento (Rearte y Pieroni, 2001).

La producción de materia seca tiene su pico en primavera, lo que representa en promedio el 45 - 50% del rendimiento anual, produciéndose una disminución en el verano cuando el pasto es más maduro, teniendo un nuevo rebrote en otoño, para tener su tasa más baja de crecimiento en invierno (Rearte y Pieroni, 2001). En primavera el exceso de pasto y leguminosas templadas suelen ser preservados como ensilaje o heno por las explotaciones uruguayas. Bajo condiciones experimentales, ensilajes de alta calidad se han obtenido de Uruguay. Los estudios realizados por Rearte y Santini (1989) demostraron que el medio ambiente ruminal en el ganado consumiendo forraje de alta calidad es diferente al ambiente ruminal reportado en ganado alimentado con dietas basada en alimentos procesados como heno, ensilado y concentrado.

Las características que una planta debe tener para lograr un ensilado sin problemas son: alto contenido de azúcar, bajo contenido de proteína y reducida capacidad tampón (Pasturas y Forrajes, 2012). La conservación de una pastura como ensilaje depende de la fermentación anaeróbica de los azúcares solubles hasta ácido láctico (Van Soest, 1994). La presencia de estos ácidos baja el pH del silo, creando las condiciones para que el forraje se conserve bien (Pasturas y Forrajes, 2012).

Los ensilados de pastura son química, física y biológicamente complejos, y abarcan una amplia gama en la composición y valor nutritivo (Restaino y col., 2009). Según Zea y Díaz (1996) el suministro de energía que hacen los azúcares solubles de los

ensilados es un poco menor que el de henos y otros forrajes frescos, Repetto y col. (2005) observaron que las materias nitrogenadas de las pasturas son afectadas por el proceso de ensilaje, incrementándose tanto la fracción de rápida degradación como la indegradable. En tanto, se demostró que la adición de suero de queso permite obtener ensilajes de pasturas bien conservados, que impactan positivamente sobre la tasa de producción de gas *in vitro* con respecto a ensilajes sin aditivos (Britos y col., 2007).

SUPLEMENTACIÓN

En los sistemas de producción de rumiantes la principal meta de la suplementación es optimizar la producción por animal y por unidad de superficie (Kellaway y Harrington, 2004). La suplementación puede ser energética o proteica, en los sistemas que se basan en la utilización de pasturas templadas la proteína no representa una limitante por lo que la energía es el principal nutriente limitante. Por este motivo, los concentrados energéticos son habitualmente incluidos en las estrategias de alimentación (Bargo y col., 2002). El suplemento puede utilizarse en diferentes situaciones; cuando la pastura no cubre los requerimientos de los animales, cuando se desea aumentar la carga animal o cuando se quiere aumentar los niveles de producción (Rosso, 1997).

En la región, los sistemas productivos de ganadería se basan en el pastoreo con una dependencia estratégica de la suplementación con concentrados (Rearte y Santini, 1989). Lo cual ha sido utilizado como una herramienta para mejorar la productividad animal cuando se alimenta a los rumiantes con pasturas templadas de alta calidad (Elizalde y Santini, 1992). A diferencia de lo expresado por Van Soest (1994) que manifiesta que animales alimentados con forrajes de baja calidad nunca alcanzan a producir al mismo nivel que animales alimentados con forraje de alta calidad y menor cantidad de suplemento, la información existente en cuanto a la suplementación indica que las respuestas productivas que pueden ser obtenidas con altos niveles de concentrados son superiores a los que se pueden obtener en pastoreo, aún en condiciones óptimas (Gómez, 1997).

Los granos de cereales son utilizados como suplementos y poseen contenidos de almidón de hasta 72% y pueden ser clasificados en rápida (trigo y cebada) y lentamente degradables (maíz y sorgo) (Offner y col., 2003). El grano de maíz es un cereal de lenta degradación y de alto valor energético, posee un alto contenido en almidón (63-65%), y un bajo contenido (8-9%) de fibra neutro detergente (FND). La FND está compuesta por celulosa y pentosas, con un bajo contenido en lignina. El aporte de proteínas es bajo; 10%. El grano de cebada es un cereal de rápida degradación, posee un contenido de almidón de 50-55%, 2-3% de azúcares y 17-19% de FND. El contenido en PB es de un 11-12% (Repetto y col. 2005; Offner y col, 2003). La extensión en la tasa de digestión ruminal de la cebada, la avena y el trigo es alta (80 % en promedio) y resulta inferior y más variable en los almidones de maíz (65 % en promedio) y de sorgo (42 % en promedio) (Nocek y Tamminga, 1991). Algunos oligosacáridos, los azúcares y el almidón tienen la potencialidad de ser digeridos en el intestino delgado, y los monosacáridos resultantes son absorbidos. Los polisacáridos de la fibra neutro detergente se digieren sólo por las enzimas microbianas (Leiva y col., 2000).

Dos factores influyen en la ingesta de nutrientes cuando el ganado en pastoreo es suplementado con concentrado, la sustitución del consumo de forraje por concentrado y la depresión sobre la digestión de la fibra. Se denomina sustitución a la disminución en el consumo de materia seca de pastura por unidad de consumo de concentrado (Rearte y Pieroni, 2001). Normalmente los efectos de sustitución son mayores cuanto mejor es la calidad del forraje. En pasturas de alta calidad el efecto de la suplementación sobre la tasa de sustitución es más importante que la depresión de la digestión de la fibra, mientras que en pasturas de baja calidad ocurre lo contrario (Elizalde y col, 1999).

La acidosis es el resultado del consumo de carbohidratos fermentables en cantidades suficientes como para causar una acumulación de ácidos orgánicos en el rumen, con una reducción concurrente en el pH. Los microorganismos ruminales responden al aumento de sustratos más fermentables, como lo son los almidones y los azúcares, aumentando así su tasa de crecimiento y las actividades de fermentación, particularmente de ácidos grasos volátiles (AGV) y ácido láctico (Naragaja y Titgemeyer, 2007). El riesgo de acidosis es tanto mayor cuanto mayor sea la cantidad y la velocidad de degradación de los hidratos de carbono no fibrosos. El potencial acidogénico de los diferentes ingredientes depende de la velocidad de degradación de los almidones, que varía entre especies vegetales, y puede modificarse física o químicamente (Calsamiglia y Ferret, 2002). La fermentación ruminal de los mono y oligosacáridos (azúcares) y el almidón tienden a producir relativamente más propionato que acetato, y pueden producir ácido láctico. Por el contrario, las materias pécticas, tienden a producir más acetato y no generan cantidades apreciables de propionato y de ácido láctico (Strobel y Russell, 1986).

SUPLEMENTACIÓN CON CASCARILLA DE SOJA

Existen subproductos industriales que tienen un valor potencial como alimento para los animales. Los rumiantes, en especial, tienen la capacidad única de utilizar la fibra, debido a su microbiota ruminal. Muchos estudios han demostrado el valor nutritivo de los subproductos de la agroindustria (Grasser y col., 1995; Bampidis y Robinson, 2006). Esto significa que los cereales pueden ser reemplazados en gran medida por estos subproductos (Boucque y Fiems, 1988), principalmente como componente energético de la dieta. El costo de la alimentación en la producción ganadera es la variable principal, por lo tanto, en la producción ganadera con éxito, la reducción de los costos de alimentación y mantenimiento de la productividad es una estrategia fundamental (Grasser y col., 1995).

Dentro de los subproductos que pueden ser utilizados como suplementos de pasturas se encuentra el caso de la cascarilla de soja (CS). Además de las posibilidades para dar una alternativa económica en sustitución de los granos de cereales, la incorporación a la dieta de cascarilla de soja puede contribuir a la ingesta elevada de la energía evitando al mismo tiempo una disrupción de la funcionalidad del rumen. Se ha observado que puede suplantar al grano de maíz para hasta el 30% de la MS en dietas altas en granos sin que ello afecte la fermentación o la digestión en el tracto gastrointestinal (Ipharraguerre y col., 2003).

La CS es una fuente de fibra digestible en rumen y con bajo contenido de almidón que se caracteriza por poseer un buen valor energético (mayor a 2,5 Mcal EM/kg

MS) y a causa de estas características podría reemplazar en parte a los granos de cereales en raciones, evitando superar de esta forma el porcentaje de almidón recomendado. Los hidratos de carbono, predominantemente polímeros de glucosa, representan aproximadamente el 80% de la MS de la CS (van Laar y col., 1999). Tiene un alto contenido de FND (67%) y un aporte de PB de 9,75% (Salado y col., 2005). La fracción de fibra de CS, que contiene cantidades relativamente grandes tanto de celulosa (~ 43% de HS MS) y de hemicelulosa (~ 18% de HS MS), es poco lignificada. El contenido de lignina de la CS oscila entre el 1,4% al 3,9% (Ipharraguerre y col., 2003), lo que la hace altamente digestible (Salado y col., 2005). Los datos *in situ* y experimentos *in vitro* han demostrado que los microorganismos ruminales son capaces ampliamente de la fermentar la CS a tasas elevadas (Ipharraguerre y col., 2003).

Aunque presenta una degradabilidad potencial cercana al 90%, la velocidad de degradación de la fibra de CS en el rumen es lenta (3,90 %/h), lo que se relaciona con las características estructurales de su pared celular (epidermis de células en empalizada) (Grenet y Barry, 1987). Esto tiene implicancias prácticas ya que el grado de digestión de la fibra resulta altamente dependiente del tiempo de permanencia del alimento en el rumen o de su velocidad de pasaje "kp" (Salado y col., 2005). La degradabilidad potencial de la fibra de CS resultó en 44 puntos porcentuales por encima del correspondiente valor del afrechillo de trigo (AT), cercano al valor de 90% informado por García Rebollar y col. (1997).

La digestibilidad y el valor energético de la fibra de CS se reducen para animales de alto nivel de producción y consumo (vacas lecheras en lactancia temprana, terneros en engorde intensivo), en los que el tránsito digestivo es más rápido. Por el contrario, la digestión de la fibra de CS es más completa en el caso de raciones con una alta proporción de forraje largo, donde el tiempo de permanencia del alimento en el rumen es prolongado (Grant, 1997). Por otra parte, la CS puede usarse con éxito como una fuente de fibra en raciones para ganado lechero cuando los forrajes o bien son de mala calidad o insuficientes (Ipharraguerre y col., 2003). No se recomienda su uso en reemplazo de forraje, pues aunque el contenido de fibra de la CS es elevado, ésta no es efectiva en estimular la rumia y en los ensayos en los que se reemplazó forraje por CS en raciones para vacas lecheras se produjo una caída en la producción de grasa, la cual fue superada por la adición de heno de alfalfa picado grueso (Grant, 1997). Esa respuesta puede ser parcialmente explicada por la naturaleza altamente digestible de la CS, que generalmente supera la digestibilidad de los forrajes utilizados en los experimentos.

PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO*

Las características de fermentación de los alimentos en el rumen pueden ser estudiadas por métodos *in vivo* o *in vitro* (Van Soest, 1994). Con el propósito de evaluar alimentos se desarrollaron las técnicas de fermentación *in vitro*, éstas son consideradas más rápidas y menos costosas que las técnicas *in vivo* ya que utilizan menor número de animales. La técnica de producción de gas *in vitro* fue desarrollada para predecir de forma indirecta la magnitud y la cinética de fermentación de alimentos para rumiantes. Los alimentos son incubados con buffer y líquido ruminal y el gas producido es medido como indicador indirecto de la cinética de fermentación. El gas que se libera durante el proceso fermentativo es producido por

microorganismos contenidos en una fuente de inóculo (Kalan y col., 2007). Theodorou y col. (1994), propusieron y desarrollaron una técnica de medición manual de la presión usando un ensamble de jeringa/transductor que mide el gas acumulado, los sustratos se incuban en frascos sellados causando la acumulación de los gases de la fermentación en el espacio superior, luego se libera el gas acumulado hasta restaurar la presión atmosférica al interior del frasco.

Las principales ventajas de la técnica de producción de gas están dadas por el bienestar animal, tamaño de la muestra, el costo y la descripción de la cinética de fermentación. Como desventaja se menciona la falta de uniformidad en las metodologías, lo que dificulta la comparación de resultados entre grupos de investigación (Williams, 2000). Entre otros efectos que dificultan la comparación entre grupos están, los efectos de cambios en la presión atmosférica afectados por la altitud, efectos de la agitación de la fermentación *in vitro*, efectos del tamaño de la muestra y su preparación, efectos del tipo de inóculo, efectos del uso de blancos, efecto de la composición del medio de cultivo, efectos de los aparatos usados y efectos de los diferentes sistemas de evaluación (Rymer y col., 2005). Leedle y Hespell (1983) demostraron que la ausencia de una estricta anaerobiosis resulto en pérdidas parciales de los grupos de bacterias celulolíticas y amilolíticas del fluido ruminal.

Entre los factores implicados en la variación de la producción de gas se encuentra la dieta del animal donante de líquido ruminal, ya que pueden existir diferencias cuando los animales donantes están adaptados al consumo de almidón o taninos (Rymer y col., 2005). Durante el ensilaje, la fermentación anaeróbica de MO vegetal también produce ácidos grasos volátiles y ácido láctico, los cuales podrían afectar el perfil de producción de gas de los alimentos (Palmer y col., 2005). Para simular mejor las condiciones *in vivo*, en la evaluación *in vitro* de los alimentos (especialmente en el caso de ensilajes fermentados con un alto contenido de componentes volátiles) se deben utilizar sustratos lo más similar posible a los que se alimentan a los animales (Calabro y col., 2005).

Grant y col. (1974) no hallaron diferencias en la digestión *in vitro* de MS y de paredes celulares, usando como inóculo líquidos ruminales de 2 especies (bovino y búfalo de río) que consumían la misma dieta de forraje tropical. En cambio al utilizar un inóculo de un bovino alimentado con forraje de clima templado, la digestión *in vitro* fue menor. La fuente de fibra (henolaje de alfalfa, mazorca de maíz, cáscara de algodón, cascarilla de avena y cascarilla de soja) en dietas de animales donantes de inóculo es otro de los factores de variación de la digestión *in vitro* de la MS, incluso cuando la composición química de la dieta es similar (Cherney y col., 1993).

Análisis de los Resultados Obtenidos a partir de la Técnica de Producción de gas *in vitro*.

El análisis de los datos obtenidos a partir de la técnica se basa en modelos matemáticos para estimar el índice y grado de digestión acumulativa de los alimentos a partir de la producción de perfiles de gas (López y col., 2007). Las curvas de producción de gas pueden ser ajustadas a diferentes modelos matemáticos (Posada y Noguera, 2007). La descripción estadística por modelos matemáticos de las curvas de producción de gas permite la comparación de los sustratos, la evaluación de diferentes ambientes de fermentación (Noguera y col., 2004). Posada y Noguera (2007) indican que los mejores modelos son aquellos que presentan el mejor balance entre la capacidad de ajuste de los datos y la coherencia biológica, siendo necesaria su evaluación en las más variadas condiciones experimentales, a fin de escoger el mejor para cada situación.

Uno de los modelos utilizados es el modelo exponencial simple con latencia ("lag"). Durante la fase inicial ocurre la hidratación y colonización del sustrato insoluble por los microorganismos ruminales. Cuando el sustrato es saturado con microorganismos y enzimas, la fase exponencial toma lugar; durante esta fase la parte más degradable del sustrato insoluble es degradada primero, y el sustrato menos digestible precisa de más tiempo para ser degradado. Finalmente, cuando la fracción potencialmente degradable ha sido digerida, la producción de gas es cero (Posada y Noguera, 2007).

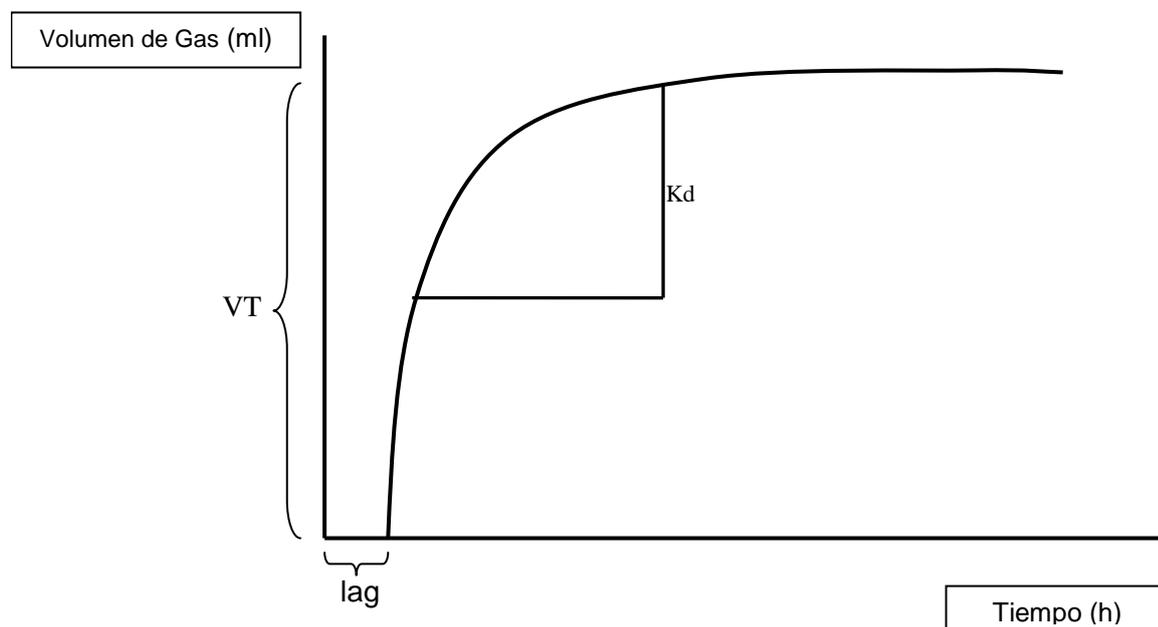


Figura 1. Cinética de producción de gas (ml) en función del tiempo (h) obtenido por el modelo exponencial simple con tiempo de latencia. VT: volumen de gas acumulado; lag: tiempo de latencia en producción de gas; Kd: tasa fraccional de producción de gas.

HIPÓTESIS

- La suplementación con diferentes concentrados causará microbiotas ruminales con diferentes actividades fermentativas.
- La suplementación con concentrados de tipo fibroso provocará microbiotas ruminales con mayor capacidad fermentativa de forrajes

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad fermentativa de líquidos ruminales provenientes de bovinos alimentados con ensilaje de pastura de alta calidad y suplementados con diferentes concentrados.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los parámetros de la producción de gas *in vitro* de inóculos procedentes de bovinos alimentados con ensilaje de pastura de alta calidad y suplementados con maíz, cebada o cascarilla de soja.
- Evaluar las modificaciones de la fermentescibilidad *in vitro* al incorporar diferentes tipos de sustratos a los inóculos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se desarrolló Unidad de Digestión y Metabolismo Ruminal del Departamento de Nutrición Animal en el Campo Experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria-UdelaR (San José, Uruguay, 34° 41' S and 56° 32' O).

Los análisis de composición química de los alimentos se realizaron en el laboratorio de análisis químicos del Departamento de Nutrición Animal de la Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. El cuidado y uso de los animales estuvo de acuerdo con la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA), sobre el uso de animales de experimentación, docencia e investigación universitaria de la UdelaR.

ANIMALES DONANTES Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizaron 24 vaquillonas Hereford (PV promedio 224,2kg) provistas cada una de una sonda ruminal. Los animales fueron alojados individualmente en jaulas metabólicas y asignados al azar a 4 dietas: sólo ensilaje de pastura (*Lolium*

multiflorum y *Lotus corniculatus*), ensilaje de pastura suplementado con cascarilla de soja, con cebada molida o con maíz molido. La composición química de los alimentos utilizados se presenta en el cuadro 1. Las dietas fueron ofrecidas a partir de las 7:00h hasta las 20:00h, a los animales suplementados se les proporcionaba el concentrado respectivo a un nivel de 1% de su PV, previamente al forraje en una sola vez diaria y el ensilaje fue brindado sin restricción de cantidad. Los animales consumieron diariamente 31 g de MS/kg PV (media = 6,93 kg MS/d) sin diferencias entre dietas.

La actividad fermentativa se determinó mediante un ensayo de producción de gas *in vitro*. Después de 21 d de adaptación a las dietas se colectaron 60 mL de líquido ruminal de cada animal luego de 8 h del inicio de la comida y se mezclaron los líquidos ruminales provenientes de los animales que consumían la misma dieta. Las mezclas de líquido ruminal (n=4) fueron utilizadas como inóculo sobre 2 tipos de sustratos: forrajes (ensilaje de pastura, lotus y avena) o concentrados (cascarilla de soja, maíz y cebada) (cuadro 1). Además, se incluyeron como blancos de inóculo dos frascos de fermentación sin sustrato por cada mezcla de líquido ruminal.

Cuadro1: Composición química de los alimentos utilizados

Alimento	MS (%)	MO (% MS)	PB (% MS)	FDN (% MS)	FDA (% MS)
Cascarilla de soja	90,2	93,9	15,4	57,0	39,0
Cebada	89,5	95,6	9,4	22,9	8,7
Maíz	88,4	98,7	8,6	12,1	3,4
Ensilaje de pastura	22,6	86,8	16,7	44,9	31,9
Lotus	31,7	94,0	10,8	47,8	30,3
Avena	19,5	91,7	8,40	57,6	29,4

MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FDN: fibra detergente neutro; FDA: fibra detergente ácido

PRODUCCIÓN DE GAS IN VITRO

Para determinar la producción de gas *in vitro* se utilizó el procedimiento descrito por Theodorou y col. (1994) modificado por Mauricio y col. (1999). Después de 21d de adaptación a las dietas, se colectó 60 mL de líquido ruminal de cada animal a las 15.30h y se mezcló por tratamiento. Se pesó 0,5 g de sustrato por triplicado en frascos de fermentación de 125 mL para cada inóculo. A cada frasco de fermentación se le agregó 38 mL de un medio de cultivo libre de N, modificado de Williams y col. (2005) (cuadro 2), 8h antes de la inoculación para permitir la hidratación del sustrato.

Previamente a la inoculación los frascos fueron llevados a un baño María a 39°C, donde se mantuvieron por todo el período de mediciones. El líquido ruminal se mantuvo bajo un burbujeo constante de CO₂ para lograr la anaerobiosis mientras se realizaba la inoculación de cada frasco con 10 mL de fluido, posteriormente, se taparon con tapón de goma butilo y se sellaron con precintos de aluminio y se mantuvieron refrigerados (4°C).

Cuadro2: Composición del medio de incubación libre de N

Solución basal (38mL/frasco de fermentación)				
KCl	0.6 g			
NaCl	0.6 g			
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.2 g			
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g			
Solución de oligoelementos	10mL	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.025 g	} disueltos en HCl 0.02M 1L
		FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.020 g	
		ZnCl ₂	0.025 g	
		CuCl ₂ ·2H ₂ O	0.025 g	
		CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.050 g	
		SeO ₂	0.050 g	
		NiCl ₂ ·6H ₂ O	0.250 g	
		Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.250 g	
		NaVO ₃	0.0314g	
H ₃ BO ₃	0.250g			
Solución de hemina	10mL	0.1g disuelto en una pequeña cantidad de NaOH 0.05M y luego 1L (csp) de H ₂ O destilada hervida con burbujeo de CO ₂		
Solución reductora (0.5mL/frasco de fermentación)				
Na ₂ S·9H ₂ O	20.5g	disuelto en 1L (csp) de H ₂ O destilada hervida con burbujeo de CO ₂		
Solución de bicarbonato (2mL/frasco de fermentación)				
Na ₂ CO ₃	82 g	disuelto en 1L (csp) de H ₂ O destilada hervida con burbujeo de CO ₂ , previo al uso 20 min de burbujeo de CO ₂		

csp: cantidad suficiente para

Las mediciones de presión se realizaron con un manómetro digital (Cole Parmer Instrument Co.), al que se adaptó una jeringa con aguja hipodérmica 21G, las mismas se realizaron a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 48, 72 y 96h posteriores de la inoculación. Luego de medida la presión se procedió a realizar el “venting” dejando insertada la aguja para permitir el escape de gas agitando suavemente para mezclar el contenido de los frascos. Al gas producido por cada frasco se le restó el gas producido por los frascos que representaron los blancos.

La cantidad de gas en mL fue estimada de acuerdo a la ecuación $V = 4,40P + 0,09P^2$ (V es el volumen de gas en mL y P es la presión observada en psi) obtenida en un experimento previo realizado en condiciones similares.

ANÁLISIS QUÍMICOS

Las muestras de alimentos se secaron en estufa durante 48 h a 60°C para determinar Materia Seca (MS) y luego se molieron en un molino de rotor provisto de criba de 1 mm (Fritsch GMBH, Idar-Oberstein, Alemania). Se determinaron Cenizas y Proteína Bruta (PB) según los métodos 942.05 y 984.13 respectivamente de AOAC (1990). La Materia Orgánica (MO) se calculó por diferencia (% MO = 100 - % de Cenizas). Las determinaciones de Fibra Detergente Neutra (FDN) y Fibra Detergente Ácida (FDA) se realizaron de acuerdo al método propuesto por Robertson y Van Soest (1981) usando un analizador de fibra ANKOM²²⁰ (ANKOM Technology Corp., Macedon, NY, USA) y con α -amilasa termoestable, y expresadas con la ceniza residual incluida.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

El volumen de gas obtenido de cada frasco de fermentación fue ajustado por regresión no lineal mediante PROC NLIN de SAS[®] (versión 8.02, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) al modelo:

$$V = a(1 - e^{-kd(t-L)})$$

donde “V” (mL/g MS incubada) denota la producción de gas acumulada a tiempo t, “a” (mL/g MS incubada) es la producción potencial de gas; “kd” (h⁻¹) es la tasa fraccional de producción de gas y “L” (h) es el tiempo de latencia de la producción de gas.

Para evaluar el efecto sobre la actividad fermentativa de los líquidos ruminales de la suplementación con diferentes concentrados se utilizó el procedimiento PROC MIXED de SAS[®] (versión 8.02, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), de acuerdo al modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + I_i + F_j + (I*F)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

donde μ es la media general, I_i es el efecto fijo del inóculo (n=4) medido en k réplicas (3 frascos), F_j es el efecto fijo del tipo de alimento, $(I*F)_{ij}$ es la interacción entre inóculo y tipo de alimento y ϵ_{ijk} es el error residual. El tipo de alimento se consideró como la unidad experimental y cada forraje o concentrado se consideraron réplicas experimentales. Las medias de los inóculos y de los sustratos fueron separadas mediante el procedimiento LSMEANS de SAS[®]. En los casos en que la interacción I*F fue significativa, el efecto simple principal del inóculo fue analizado utilizando la opción SLICE.

Las diferencias con $P < 0,05$ fueron consideradas estadísticamente significativas y cuando $0,05 < P < 0,10$ se consideraron tendencias.

RESULTADOS

La actividad fermentativa de los diferentes líquidos ruminales fue diferente sobre forrajes o concentrados (Cuadro 3). En ese aspecto, se observaron interacciones significativas entre el tipo de alimento y el líquido ruminal para la producción de gas (“a”, $P < 0.001$) y para el tiempo de latencia (“L”, $P < 0.001$). Por lo tanto se estudiaron los efectos simples principales de los líquidos ruminales sobre esos parámetros para cada tipo de alimento. Cuando los sustratos incubados fueron concentrados se expresaron diferencias entre los distintos líquidos ruminales. Se observó menor producción de gas y menor tiempo de latencia cuando se utilizó líquido ruminal de los animales suplementados con cebada. Mientras que el uso de fluido ruminal del grupo no suplementado causó mayor producción de gas y mayor tiempo de latencia.

Cuadro 3. Efectos principales simples del líquido ruminal de vaquillonas alimentadas con ensilaje de pastura de alta calidad como único alimento o suplementadas con cascarilla de soja, cebada o maíz sobre la producción potencial de gas y el tiempo de latencia de la producción de gas *in vitro* de forrajes o concentrados

Parámetro	Sustrato: Forrajes				Sustrato: Concentrados				EEM	P Inóculo	P sustrato	P inoc*sust
	S	S+CS	S+C	S+M	S	S+CS	S+C	S+M				
a	192	205	206	203	298 ^a	263 ^{bc}	246 ^c	279 ^{ab}	7,524	<,001	0,073	<,001
L	1,66	1,42	1,40	1,99	3,00 ^a	2,03 ^b	1,20 ^c	1,88 ^b	0,176	<,001	0,002	<,001

a: producción potencial de gas (mLgas/ g MS incubada) ; L: tiempo de latencia de la producción de gas (h); S: sólo ensilaje de pastura; S+CS: ensilaje de pastura suplementado con cascarilla de soja; S+C: ensilaje de pastura suplementado con cebada; S+M: ensilaje de pastura suplementado con maíz; EEM: error estándar de las medias.

^{abc}Diferentes superscritos dentro de una fila (para cada sustrato) indican que las medias seguidas difieren estadísticamente ($P < 0.05$).

La tasa de producción de gas (“kd”), que se presenta en el cuadro 4, mostró solo una tendencia ($P = 0.069$) a la interacción entre tipo de alimento y líquido ruminal, pero fueron significativos los efectos del líquido ruminal ($P = 0.001$) y del sustrato ($P = 0.020$). Así, la velocidad de producción de gas fue menor cuando el inóculo provino de animales no suplementados y cuando los concentrados fueron utilizados como sustratos.

Cuadro 4. Efectos del líquido ruminal de vaquillonas alimentadas con ensilaje de pastura de alta calidad como único alimento o suplementadas con cascarilla de soja, cebada o maíz y del sustrato incubado sobre la tasa fraccional de producción de gas *in vitro*

Parámetro	Inóculo				EEM	P	Sustratos				P inoc*sust
	S	S+CS	S+C	S+M			Forrajes	Concentrados	EEM	P	
Kd	0,056 ^b	0,072 ^a	0,075 ^a	0,065 ^{ab}	0,005	0,001	0,075 ^a	0,059 ^b	0,003	0,020	0,069

kd: tasa fraccional de producción de gas (h^{-1}); S: sólo ensilaje de pastura; S+CS: ensilaje de pastura suplementado con cascarilla de soja; S+C: ensilaje de pastura suplementado con cebada; S+M: ensilaje de pastura suplementado con maíz; EEM: error estándar de las medias.

^{ab}Diferentes superscritos dentro de cada efecto indican que las medias difieren estadísticamente ($P < 0.05$).

DISCUSIÓN

Inesperadamente cuando los inóculos fueron incubados sobre forrajes no se expresaron diferencias entre ellos a pesar de que el efecto negativo de la suplementación sobre la fermentación de la fibra ha sido documentado previamente (Mould y col., 1983). También Cajarville y col. (2006) utilizando líquido ruminal de vacas suplementadas con maíz o trigo, observó una digestión *in vitro* (IVTD) de forrajes menor con el uso de trigo. Incluso, en este trabajo el líquido ruminal de animales no suplementados, que teóricamente debería poseer mayor proporción de bacterias celulolíticas, no presentó mayor actividad fermentativa sobre los forrajes. En ese sentido, Dehority y Tirabasso (1998) indicaron que los factores intrínsecos de los forrajes son más importantes para su degradación ruminal que la concentración de bacterias celulolíticas. Así, la respuesta obtenida puede estar relacionada a la alta calidad de los forrajes utilizados como sustrato, con niveles de FDN y FDA en torno al 50% y 30%, respectivamente. En consecuencia, cuando se usan forrajes de alta calidad, el tipo de concentrado suplementado no afectaría la actividad fermentativa, al menos un nivel de suplementación del 1% del PV.

Cuando se incubaron concentrados las diferencias obtenidas entre inóculos fueron llamativas. No sólo existieron diferencias entre líquidos ruminales de animales suplementados y no suplementados, como reportó Trei y col. (1970) que al incubar *in vitro* cebada y sorgo observó mayor volumen de gas con líquido ruminal de animales suplementados, también el tipo de concentrado suplementado afectó la actividad fermentativa. Aún más, el tipo de almidón consumido por los animales donantes influyó sobre los perfiles de producción de gas. El inóculo de los animales que consumieron cebada, atacó rápidamente el sustrato pero produjo bajo volumen de gas; esto sugiere una importante actividad microbiana pero también que el ambiente ruminal es afectado negativamente en poco tiempo. Mientras la suplementación con maíz o con cascarilla de soja condujo a volúmenes de gas y tiempos de latencia similares, a pesar de las grandes diferencias en la composición de carbohidratos entre estos concentrados.

Durante el proceso de incubación existe un período donde ninguna o una reducida degradación del alimento ocurre, que es conocido como tiempo de colonización o tiempo "lag" (Noguera y Posada, 2007). Los animales que consumieron solo ensilaje de pastura presentaron los mayores valores de tiempo de latencia al reaccionar con los concentrados, en ese sentido McAllister y col. (1994) indicaron que la adhesión y colonización bacteriana con la consiguiente formación del biofilm microbiano son afectadas por cambios del sustrato. En el presente trabajo todos los sustratos fueron molidos a 1mm, por lo tanto se expuso a la colonización microbiana superficies similares en todos los sustratos, por consiguiente el factor limitante del inicio de la producción de gas podrían ser las poblaciones predominantes en los líquidos ruminales.

Es también llamativa la similitud en todos los parámetros de producción de gas entre los animales suplementados con cascarilla de soja y maíz, a pesar de la diferencia en su composición química presentando un 57% de FND la cascarilla de soja y un 12% el maíz. En ese sentido Ipharraguerre y col. (2002) no encontraron diferencias en el pH ruminal de vacas lecheras sustituyendo maíz por cascarilla de soja en una ración totalmente mezclada. Esto se podría explicar a que la CS es de naturaleza altamente digestible con una degradabilidad potencial cercana al 90% (Salado y col., 2005) y poco lignificada (Ipharraguerre y col., 2003) lo cual podría provocar

condiciones ruminales similares al maíz, que se caracteriza por alto contenido de almidón de lenta degradación (Offner y col., 2003). Además la sustitución de maíz por cascarilla de soja en dietas de vacas lecheras no produjo cambios en la producción de leche, el consumo de MS ni en la concentración plasmática de glucosa, evidenciando la similitud de efectos a nivel digestivo entre ambos (Mendonça y col., 2007).

Con respecto a la velocidad de fermentación, se observó que al incubar concentrados obtuvieron una menor tasa fraccional de producción de gas que los forrajes, resultado llamativo ya que teóricamente los forrajes fermentan más lento que los concentrados. Sin embargo el inóculo procedente de animales que consumían sólo ensilaje de pastura, mostró la menor velocidad de producción de gas, resultado coherente si consideramos que la microbiota ruminal celulolítica de los animales que consumían solo ensilaje está adaptada a degradar fibra y los microorganismos responsables de esta acción generalmente presentan tasas de crecimiento lentas (Mackie y White, 1990).

De esta manera los resultados expuestos en este trabajo aportan información sobre la actividad fermentativa de diferentes inóculos dependiendo sobre que sustrato reaccionan. Estos inóculos provienen de animales adaptados a consumir dietas específicas y por lo tanto presentarían una microbiota determinada, así podríamos reafirmar que el inóculo es una de las principales fuentes de variación en la producción de gas (Rymer y col., 2005).

CONCLUSIONES

La suplementación con diferentes concentrados generó ecosistemas ruminales con diferentes actividades fermentativas, pero la inclusión de cascarilla de soja no aumentó la capacidad fermentativa del líquido ruminal sobre forrajes.

La cascarilla de soja como suplemento puede sustituir el maíz sin producir grandes cambios en la dinámica de producción de gas.

A pesar de que se necesitan más trabajos *in vivo* para una aproximación más completa del problema, podríamos afirmar que la suplementación con concentrados fibrosos causaría los mismos efectos a nivel ruminal y podría sustituir a los concentrados con alto contenido de almidón, pero deben tomarse las mismas precauciones al momento de suministrarlos a los animales.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Bach A., Calsamiglia S., Stern M.D. (2005). Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 88:9–21.
- 2) Bampidis B.A., Robinson P.H. (2006). Citrus by-products as ruminant feeds: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 128:175-217.
- 3) Bargo F., Rearte D.H., Santini F.J., Muller L.D. (2001). Ruminant digestion by dairy cows grazing winter oats pasture supplemented with different levels and sources of protein. *J Dairy Sci* 84:2260-2272.
- 4) Bargo F., Muller L.D., Varga G.A., Delahoy J.E., Cassidy T.W. (2002). Ruminant digestion and fermentation of high-producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 85:2964–2973.
- 5) Beever D.E., Mould F.L. (2000). Forage evaluation for efficient ruminant livestock production. En: Givens D.I., Owen E., Omed H.M., Axford R.F.E. *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. Wallingford. CAB. 475 p.
- 6) Boucque C.H.V., Fiems L.O. (1988). Vegetable by-products of agro-industrial origin. *Livest. Prod. Sci.* 19:97-135.
- 7) Britos A., Repetto J. L., Garcarena D., Cajarville C. (2007). Efecto del suero de queso como aditivo de ensilajes de pastura sobre la conservación, los azúcares solubles y la producción de gas *in vitro* *Agrociencia* 11(2):72–77.
- 8) 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.
- 9) Calabró S., Cutrignelli M.I., Piccolo G., Bovera F., Zicarelli F., Gazaneo M.P. and Infascelli F. (2005). *In vitro* fermentation kinetics of fresh and dried silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123–124:129–137.
- 10) Calsamiglia S., Ferret A. (2002). Fisiología ruminal relacionada con la patología digestiva: acidosis y meteorismo. XVIII Curso de especialización FEDNA (Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal). *Avances en Nutrición y Alimentación Animal*. Eds. P.G Rebollar, C. de Blas y G.G. Mateos. Barcelona, España. p. 97. Disponible en: <http://www.etsia.upm.es/fedna/publi.htm>. Fecha de consulta: 19 de noviembre de 2011
- 11) Cherney D.J., Siciliano-Jones J., Pell A. N. (1993). Technical note: forage *in vitro* dry matter digestibility as influenced by fiber source in the donor cow diet. *J Anim Sci.* 71:1335-1338.
- 12) Dehority B. A., Tirabasso P.A. (1998). Effect of ruminal cellulolytic bacterial concentrations on *in situ* digestion of forage cellulose. *J Anim Sci* 76:2905-2911.

- 13)DIEA (2011). Uruguay; Ministerio de Ganadería Agricultura y pesca. Estadísticas agropecuarias. Montevideo, Uruguay, Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,583,O,S,0,MNU;E:27;7;MNU>. Fecha de Consulta: 17 de agosto de 2012.
- 14)Dixon, R.M., Stockdale C.R. (1999). Associative effects between forages and grains: consequences for feed utilization. *Austr. J Agric Res* 50:757-773.
- 15)Elizalde J.C. (2003). Alternativas de manejo para engorde de vacunos en sistemas pastoriles. XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay. p 45-55.
- 16)Elizalde J.C., Merchen N. R., Faulkner D. B. (1999). Supplemental cracked corn for steers fed fresh alfalfa: I. Effects on digestion of organic matter, fiber, and starch. *J Anim Sci* 77:457-466.
- 17)Elizalde J.C., Santini F.J (1992). Factores nutricionales que limitan las ganancias de peso en bovinos durante el período otoño-invierno. *Bol Téc. EEA INTA, Balcarce* 104, 27 p.
- 18)Fahey G.C., Berger L.L., (1988). Los Carbohidratos en la nutrición de los rumiantes. En Church, C.D. *El Rumiante, fisiología digestiva y nutrición*, Zaragoza, Acribia. p 305-339.
- 19)Gómez P.O. (1997). Aspectos relevantes a tener en cuenta en los sistemas de producción animal en pastoreo. En: Cangiano, (Ed) *Producción animal en pastoreo*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Balcarce. Buenos Aires. P 1-4.
- 20)Grant R.J., Mertens D.R. (1992). Influence of buffer pH and raw corn starch addition on in vitro fiber digestion kinetics. *J. Dairy Sci.* 75:2762-2768.
- 21)Grant R.J., Van Soest P.J., McDowell R.E. (1974). Influence of Rumen Fluid Source and Fermentation Time on *In Vitro* True Dry Matter Digestibility. *J. Dairy Sci.* 57 (10) :1201-1205
- 22)Grant R.J. (1997). Interactions among forages and non forage fiber sources. *J. Dairy Sci.* 80:1438-1446.
- 23)Grasser L.A., Fadel J.G., Garnett I., De Peters E.J. (1995). Quantity and economic importance of nine selected by-products used in California dairy rations. *J. Dairy Sci* 78:962-971.
- 24)Herrera-Saldana R., Huber J.T. and Poore M.H. (1990). Dry matter, crude protein, and starch degradability of five cereal grains. *J. Dairy Sci.* 73:2386–2393.
- 25)Ipharraguerre I.R., Shabi Z., Clark J.H., Freeman D.E. (2002) Ruminal fermentation and nutrient digestion by dairy cows fed varying amounts of soyhulls as a replacement for corn grain. *J. Dairy Sci* 85:2890-2904.

- 26) Ipharraguerre I.R., Clark J.H. (2003). Soyhulls as an Alternative Feed for Lactating Dairy Cows: A Review. *J. Dairy Sci.* 86:1052–1073.
- 27) Kalan R., Wawrzekiewicz M., Danelón J.L. (2007). Relación entre la producción de gas acumulada in vitro y la digestión de sustrato empleando dos fuentes de inóculo alternativas. *Rev. Argentina Prod. Anim.* 27 Supl. 1 p 5-7.
- 28) Kamra D.N. (2005). Rumen microbial ecosystem. *Curr. Sci.* 89:124-135.
- 29) Kauffman W. (1976). Influence of the composition of the ration and the feeding frequency on pH-regulation in the rumen and on feed intake in ruminants. *Liv Prod Sci* 3 (2):103–114.
- 30) Kellaway R., Harrington T. (2004). Feeding concentrates: supplements for dairy cows. 2a ed. Melbourne, CISRO, p 179.
- 31) Lanzas C., Fox D.G. and Pell A.N. (2007). Digestion kinetics of dried cereal grains. *Anim. Feed Sci. Technol.* 136:265–280.
- 32) Leedle J.A.Z. and Hespell R.B. (1983). Brief incubations of mixed ruminal bacteria: effects of anaerobiosis and sources of nitrogen and carbon. *J. Dairy Sci.* 66:1003-1014.
- 33) Leiva E., Hall M.B., Van Horn H.H. (2000). Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as sources of neutral detergent-soluble carbohydrates. *J Dairy Sci.* 83:2866–2875.
- 34) Liu J.X., Susenbeth A., Sudekum K.H. (2002). In vitro gas production measurements to evaluate interactions between untreated and chemically treated rice straws, grass hay, and mulberry leaves. *J Anim Sci.* 80:517-524.
- 35) Lopez S., Dhanoa M.S., Dijkstra J., Bannink A., Kebreab E., France, J. (2007). Some methodological and analytical considerations regarding application of the gas production technique *Anim. Feed Sci. Technol.* 135: 139–156.
- 36) Mackie R.I., White B.A. (1990). Recent advances in rumen microbial ecology and metabolism: potential impact on nutrient output. *J. Dairy Sci.* 73:2971-2995.
- 37) Magalhães K.A., Valadares Filho, S.C., Detmann E., Diniz L.L., Pina D.S., Azevedo J.A.G., Araújo F.L., Marcondes M.I., Fonseca M.A., Tedeschi L.O. (2010). Evaluation of indirect methods to estimate the nutritional value of tropical feeds for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol* 155:44–54.
- 38) McAllister T.A., Bae H.D., Jones G.A., Cheng K.J. (1994). Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *J Anim Sci.* 72:3004-3018.
- 39) McDonald P., Edwards R.A., Greenhalgh J.F.D., Morgan C.A. (2006). *Nutrición Animal*, 6a.ed. Zaragoza, Acribia. 587 p.

- 40) a A., Portela F.A., Machado C.M., Vaz A., Cesar J. (2007). Substituição do milho moído por casca de soja na ração de vacas leiteiras em confinamento. *Rev. Bras. Zootec.*, 36 (5):1651-1657
- 41) Merchen N.R., Elizalde J.C., Drackley J.K. (1997). Current perspective on assessing site of digestion in ruminants. *J Anim Sci.* 75:2223-2234.
- 42) Mould F.L., Ørskov E.R., Mann S.O. (1983). Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis *in vivo* and dry matter digestion of various roughages. *Anim Feed Sci Technol* 10:15-30.
- 43) Naragaja T.G., Titgemeyer E.C. (2007). Ruminant acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. *J Dairy Sci* 90 (E. Suppl): E17-E38.
- 44) Nocek J.E., Tamminga S. (1991). Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *J Dairy Sci* 74:3598-3629.
- 45) Noguera R.R., Posada S.L. (2007). Modelación de la cinética de degradación de alimentos para rumiantes. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 20: 174-182.
- 46) Noguera R.R., Saliba E.O., Mauricio R.M. (2004). Comparación de modelos matemáticos para estimar los parámetros de degradación obtenidos a través de la técnica de producción de gas. *Livestock Res for Rural Develop.* 16 (11) Disponible en: <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd16/11/nogu16086.htm>. Fecha de consulta: 15 de diciembre 2011.
- 47) Offner A., Bach A., Sauvant D. (2003). Quantitative review of *in situ* starch degradation in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 106:81-93.
- 48) Ørskov E.R., (1986). Starch digestion and utilization in ruminants. *J. Anim. Sci.* 63:1624–1633.
- 49) Owens F.N., Goetsch A.L. (1988). Fermentación ruminal. En Church, C.D. *El Rumiante, fisiología digestiva y nutrición*, Acirbia, Zaragoza. p.159-189.
- 50) Palmer M.J.A., Jessop N.S., Fawcett R. And Illius A.W. (2005). Interference of indirect gas produced by grass silage fermentation acids in an *in vitro* gas production technique. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123–124:185–196.
- 51) Pasturas y Forrajes (2012). Disponible en: <http://www.pasturasyforrajes.com/alfalfa/silaje-y-henolaje/ensilado>. Fecha de Consulta: 3 de marzo de 2012.
- 52) Posada S.L., Noguera R.N. (2007). Comparación de modelos matemáticos: una aplicación en la evaluación de alimentos para animales. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 20:141-148.

- 53) Rearte D.H.; Pieroni G.A. (2001). Supplementation of temperate pastures. International Grassland Congress, São Pedro. Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 679-689.
- 54) Rearte D.H., Santini F.J. (1989). Digestión ruminal y producción en animales a pastoreo. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 9: 93-105.
- 55) Rearte D.H. (1992). Alimentación y composición de la leche en los sistemas pastoriles. Balcarce, CERBAS-INTA, 94 p.
- 56) Repetto J.L., Cajarville C., D'alessandro J., Curbelo A., Soto, C., Garín D. (2005). Effect of wilting and ensiling on ruminal degradability of temperate grass and legume mixtures. *Anim. Res.* 54:73-80.
- 57) Restaino E., Fernández E. y La Manna A. (2009). Predicción del Valor Nutritivo de Ensilaje de Pasturas Mediante Espectrofotometría en el Infrarrojo Cercano (NIRS). *Chilean J. Agric. Res.* 69 (4):560-566.
- 58) Robinson P.H., Getachew G., Cone J.W. (2009). Evaluation of the extent of associative effects of two groups of four feeds using an in vitro gas production procedure *Anim. Feed Sci. Technol* 150:9–17.
- 59) Rosso O.R. (1997). Suplementación Energética en Pastoreo. En: Cangiano, C. (Ed). Producción animal en pastoreo. Balcarce, INTA. p 85-101.
- 60) Rymer C., Huntington J.A., Williams B.A., Givens D.I. (2005). In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. *Anim. Feed Sci. Technol* 123-124: 9-30.
- 61) Salado E.E., Comeron E.A., Silva C., Gaggiotti M.C., Alesso A. y Pardo J. (2005). Cascarrilla de soja y afrechillo de trigo: cinética de la degradabilidad ruminal de la fibra. *XIXª Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal*. Tampico, México, p 1-4.
- 62) Santini F. (2002). Uso del maíz en sus varios tipos en la alimentación de vacunos para carne en pastoreo y feedlot. 14 p Disponible en: <http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/ganaderia/bovinos/nutricion/SANTINI.htm> Fecha de Consulta: 15 de Agosto de 2010.
- 63) Sauvant D. (1997). Conséquences digestives et zootechniques des variations de la vitesse de digestión de l'amidon chez les ruminants. *INRA Prod. Anim.* 10 (4):287-300.
- 64) Schofield P., Pitt R. E., Pell A. N. (1994). Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. *J. Anim. Sci.* 72: 2980-2991.
- 65) 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.
- 66) Theodorou M.K., Williams B.A., Dhanoa M.S., Mc Allan A.B., France J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the

fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48: 185-197.

- 67) Trei J., Hale W.H., Theurer B. (1970). Effect of grain processing on *in vitro* gas production. *J Anim. Sci.* 30:825-831.
- 68) Van Soest P.J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2a Ed. Cornell University Press. 476 p.
- 69) Williams B.A., Bosch M.W., Boer H., Verstegen M.W.A., Tamminga S. (2005). An *in vitro* batch culture method to assess potential fermentability of feed ingredients for monogastric diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123-124: 445-462.
- 70) Williams B.A. (2000). Cumulative gas-production techniques for forage evaluation. En: Givens, D.I., Owen, E., Omed, H.M., Axford, R.F.E (ed). *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. Wallingford. CAB. p 189-213.
- 71) Yokohama M.T., Johnson K.A. (1988). Microbiología del rumen e intestino En: Church, C.D. *El Rumiente, fisiología digestiva y nutrición*, Zaragoza, Acribia. p137-158.
- 72) Zea J., Díaz M. (1996). Utilización de pastos y ensilados en la producción de carne de vacuno. *Rev. Pastos* 26:129-173.