

EFECTO DE LA SUPLEMENTACION CON PROTEINA SOBRE ALGUNOS PARAMETROS RUMINALES EN BOVINOS

STRITZLER N.P. (1)

RESUMEN

Con el objeto de medir el efecto de la suplementación con harina de soja sobre parámetros ruminales, se suministró una dieta de heno de rye grass a vacas secas Holstein-Freisian fistuladas de rumen, con (CS) o sin (SS) suplementación de 1 Kg de harina de soja por vaca/día. Se obtuvieron muestras de contenido ruminal a las 0, 2, 4, 8, y 10 horas de consumo del suplemento, simultáneamente para ambos tratamientos y sobre ellas se midió: concentración de amoníaco, ATP y ácidos grasos volátiles (AGV), composición de AGV y conteo de bacterias ruminales. Se encontraron diferencias significativas en el nivel de amoníaco (CS: 86.4 mg/l; SS: 53.7 mg/l; $P<0.01$), número de bacterias (CS: 1.11×10^9 ; SS: 0.68×10^9 ; $P<0.01$), concentración de ácido propiónico (CS: 16.8 mmol/l; SS: 15.4 mmol/l; $P<0.01$) y ATP entre la hora cero (muestra tomada previamente al suministro del suplemento) y las horas 2, 4 y 6 de muestreo, para ambos tratamientos ($P<0.01$): hora cero: 9.7 g ATP/g; hora dos: 20.6 g/g; hora cuatro: 19.7 g/g; hora seis: 25.7 g/g. El número de microorganismos ruminales fue un 62% mayor en el tratamiento con suplementación respecto del testigo, indicando el efecto de la harina de soja sobre el crecimiento de la población ruminal.

Palabras clave: suplementación proteica, Harina de soja, parámetros ruminales.

SUMMARY

The objective of this study was to measure the effect of soya bean supplementation on some ruminal parameters. A diet composed of rye grass hay was given to Holstein-Freisian dry cows fitted with permanent rumen fistulae, with (CS) or without (SS) supplementation of 1 Kg soya bean meal per cow day. Samples of rumen content were withdrawn at 0, 2, 4, 6, 8, and 10 hours after supplementation, simultaneously for both treatments. The samples were processed for: ammonia, ATP and volatile fatty acids (AGV) concentration, AGV composition and rumen bacterial counts. Significant differences between treatments were found for ammonia concentration (CS: 86.4 mg/l; SS: 53.7 mg/l; $P<0.01$), number of bacteria (CS: 1.11×10^9 ; SS: 0.68×10^9 ; $P<0.01$) and propionic acid concentration (CS: 16.8 mmol/l; SS: 15.4 mmol/l; $P<0.01$) and also between sampling times for ATP concentration, in both treatments, when zero hour (sample taken immediately before supplementation) was compared with 2, 4 and 6 hours ($P<0.01$): zero hour: 9.7 g ATP/g; two hours: 20.6 g/g; four hours: 19.7 g/g; six hours: 25.7 g/g. The number of rumen microbes was 62% higher in CS when compared to SS, indicating the effect of soya bean meal upon rumen population growth.

Key words: protein supplementation, soya bean meal, ruminal parameters.

INTRODUCCION

El efecto positivo del nitrógeno adicional en la dieta del rumiante sobre el consumo y la digestibilidad de forrajes de baja calidad ha sido demostrado por varios autores (Campling et al., 1962; Coombe y Tribe, 1963; Weston, 1967; Stritzler et al., 1983; Gill y England, 1984; Forbes, 1986). Cuando se han comparado suplementos nitrogenados no proteicos y proteicos, en términos generales se ha encontrado que estos últimos fueron utilizados más eficientemente que los primeros (Smith et al., 1980, 1983; Horton y Nicholson, 1981; Ha et al., 1986). Generalmente se atribuye la diferencia a la influencia de nitrógeno sobre la fracción nitrogenada de la digesta ruminal (Orskov et al., 1971; Cottrill et al., 1982; Varvikko, 1987) y por lo tanto, a la disponibilidad de aminoácidos para el animal, más que a diferencias en la digestión ruminal cuando proteínas verdaderas fueron comparadas con nitrógeno no proteico (McManus et al., 1972; Barry y Johnstone, 1976; Kropp et al., 1977; Oldham et al., 1977; Loerch et al., 1983; Smith et al., 1985; Lee et al., 1987). Esta respuesta se atribuye a los requerimientos específicos que los microorganismos ruminales tienen por proteínas verdaderas (Harrison y McAllan, 1980). Maeng et al. (1976) demostraron que los microbios ruminales tienen requerimientos específicos por aminoácidos preformados, y Salter et al. (1979) encontraron que los microorganismos del rumen incorporaban unidades de aminoácidos y péptidos preformados. De esta manera, la disponibilidad de estas unidades puede limitar el crecimiento bacteriano, sobre todo cuando la dieta está formada esencialmente por forraje, ya que Thomsen y Johnsen (1984), Huque y Thomsen (1985) demostraron que la presencia de aminoácidos, polipéptidos o proteína verdadera es más importante para las bacterias celulolíticas que para aquellas que utilizan almidón como sustrato.

El efecto del suplemento no es tan claro cuando los niveles de proteína superan el 12% sobre materia seca de la dieta. Egan y Doyle (1985) encontraron que la disponibilidad de proteína no es un factor limitativo del crecimiento microbiano cuando la dieta superaba el 12% de proteína. En concordancia con estos autores, Rook y Armstrong (1987) y Gill et al. (1987) no encontraron un efecto significativo de la suplementación proteica (harina de pescado) sobre la digestión de silaje cuando el nivel proteico de la dieta se encontraba por encima del 12%. Por el contrario, Vik-Mo y Lindberg (1985) encontraron que la suplementación con harina de soja de una dieta basada en silaje, incrementó significativamente la degradabilidad de la materia seca de varios alimentos incubados en bolsitas de nylon.

El objetivo del presente trabajo fue medir el efecto de la suplementación con una fuente de proteína verdadera sobre algunos parámetros ruminales en condiciones tales que la disponibilidad de nitrógeno no limitase la tasa de fermentación. Un resumen de este trabajo ha sido ya publicado (Stritzler, 1990).

MATERIALES Y METODOS

Se suministró una dieta de rye grass (materia seca: 90.12%; proteína 12.06%; celulosa: 36.10%; hemicelulosa: 23.20%; lignina: 12.60%; cenizas: 7.02%), con o sin suplementación de 1 kg de harina de soja (materia seca: 88.25%; proteína: 49.19%) por día a dos vacas secas Holstein-Friesian, provistas de fístulas de rumen, dentro de un diseño de Cuadrado Latino.

El heno se ofreció "ad libitum" durante las 24 horas del día, para ambos tratamientos. Dos veces por día se retiró el heno remanente y se volvió a completar el comedero. Los animales dispusieron todo el tiempo de agua de bebida a voluntad.

Se establecieron, por lo tanto, dos tratamientos:

Tratamiento 1 (SS): Heno de rye grass.

Tratamiento 2 (CS): Heno de rye grass + 1 Kg de harina de soja.

El suplemento se suministró en una sola toma diaria, a las 8:00 hs A.M. Luego de 30 días de acostumbramiento a la dieta, se obtuvieron muestras del contenido ruminal, de los animales de ambos tratamientos, a las 0, 2, 4, 6, 8 y 10 horas de consumido el suplemento del tratamiento 2 durante 3 días consecutivos. Al finalizar el período de muestreo se cambiaron los tratamientos a los animales, y luego de otros 30 días de acostumbramiento se repitió el esquema de muestreo ya enunciado.

Sobre las muestras obtenidas se analizaron los siguientes parámetros:

- concentración de amoníaco, por el método de Conway y O'Malley (1942);
- concentración de ATP en población microbiana, siguiendo el esquema descrito por Wolstrup y Jensen (1976);
- concentración de ácidos grasos volátiles (AGV), por titulación con NaOH para AGV totales y cromatografía en fase gaseosa para cada ácido;
- composición de ácidos grasos volátiles por cromatografía en fase gaseosa y
- conteo de bacterias ruminales (Hungate, 1969).

Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza (SAS, 1985), considerando los días de muestreo como repeticiones.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados están expresados en los gráficos 1 a 8.

Se encontraron diferencias entre tratamientos en el nivel de amoníaco, número de bacterias y concentración de ácido proplónico. Los valores promedio para cada tratamiento fueron: concentración de amoníaco (en mg/l): CS: 86.4; SS: 53.7 ($P < 0.01$); número de bacterias: CS: 1.11×10^9 ; SS: 0.68×10^9 ($P < 0.01$); concentración de ácido proplónico (en mmol/l): CS: 16.8; SS: 15.4 ($p < 0.01$).

También se hallaron diferencias significativas ($P < 0.01$) en la concentración de ATP entre la hora cero (muestra tomada previamente al suministro del suplemento) y las horas 2, 4 y 6, en ambos tratamientos, sugiriendo que la concentración de ATP se encuentra más relacionada con la variación dentro del día de la actividad en rumen que con la incorporación de suplemento. Las concentraciones de ATP promedio para cada tratamiento fueron (en g/ml): hora cero: CS: 11.17; SS: 8.17; hora dos: CS: 20.63; SS: 20.50; hora cuatro: CS: 17.12; SS: 22.35; hora seis: CS: 26.70; SS: 24.73; hora ocho: CS: 16.45; SS: 17.20; hora diez: CS: 18.28; SS: 18.18.

La determinación de ATP como índice de actividad de los microorganismos es ampliamente utilizada en no rumiantes (Campbell et al., 1982; Eggum et al., 1984) con muy buenos resultados. A pesar de esto, muy pocos trabajos han sido publicados donde se utilice esta técnica como índice de actividad de los microbios ruminales (Wolstrup y Jensen, 1976, 1978; Erle et al., 1979). Los resultados que aquí se exponen no

son concluyentes en cuanto a la utilidad de esta técnica, ya que si bien se encontraron diferencias entre horas, resultando los mayores índices a las 2, 4 y 6 horas de suministrado el alimento, como era de esperar, las variaciones entre días de muestreo fueron muy grandes.

Por otro lado, también se encontraron variaciones grandes entre horas en el tratamiento sin suplemento, y si bien la actividad del rumen no es constante las 24 horas del día, no parece ser ésta una explicación satisfactoria a las variaciones encontradas.

Las diferencias en la concentración de amoníaco son el reflejo de las encontradas en conteo de bacterias, donde el número de microorganismos ruminales es un 62% mayor para el tratamiento con suplementación, o dicho de otro modo, la población bacteriana en el tratamiento testigo equivale al 61.7% de la del tratamiento con suplementación proteica (gráfico 8).

Estas diferencias, sin embargo, no se ven reflejadas en la misma magnitud, cuando se analiza la concentración de AGV, donde sólo para ácido propiónico se encontraron diferencias entre tratamientos. Estos resultados coinciden con los presentados por Orskov et al. (1971) y Grummer et al. (1984).

Existen grandes controversias entre distintos investigadores en cuanto al nivel óptimo de amoníaco en rumen para permitir una síntesis microbiana máxima (Satter y Roffler, 1976; Mehrez et al., 1977; Kellaway y Leibholz, 1983). los resultados aquí obtenidos coinciden con los de Kellaway y Leibholz (1983) y Mehrez et al. (1977), ya que la población bacteriana es mayor cuando el nivel de amoníaco crece por encima de 5 mg/100 ml, señalado como óptimo nivel por Satter y Roffler (1976).

Los resultados obtenidos muestran un claro efecto del suplemento proteico sobre el crecimiento en número de la población bacteriana. Este efecto, sin embargo, no se refleja en la actividad de dicha población, ya que ni la concentración de ATP, considerada índice de actividad microbiana, ni la concentración de AGV en rumen fueron diferentes entre tratamientos.

La mayor concentración de ácido propiónico en el tratamiento CS indicaría un cambio en el tipo de población microbiana del rumen, con un mayor crecimiento de las especies amilolíticas en desmedro de aquellas bacterias que utilizan la fibra como sustrato (Stritzler, 1988). Esto implicaría que no necesariamente un aumento en la síntesis bacteriana estaría acompañado por un incremento en la digestión de la fibra (McAllan y Smith, 1983), y dado que ésta fue el sustrato cuantitativamente más importante de la dieta en ambos tratamientos, el incremento poblacional microbiano no produjo cambios en la cantidad de ácidos grasos volátiles producidos en el rumen.

CONCLUSIONES

La inclusión del suplemento proteico en la dieta produjo un incremento importante en el número de microorganismos ruminales, probablemente de aquellos que utilizan el almidón como sustrato. La actividad microbiana, sin embargo, no fue modificada por efecto del tratamiento.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- BARRY, T.N. y JOHNSTONE, P.D. 1976. A comparison of supplementary sources of nitrogen and energy for increasing the voluntary intake and utilization of barley straw by sheep. *J. agric. Sci. (Camb.)* 86: 163-169.
- CAMPBELL, L.D.; EGGUM, B.O. y WOLSTRUP, J. 1982. Influence of dietary antibiotic on nitrogen, amino acid and energy digestion by rats and adult roosters. *Can. J. Anim. Sci.* 62: 537-545.
- CAMPLING, R.C.; FREER, M. y BALCH, C.C. 1962. Factors affecting the voluntary intake of food by cows. 3. The effect of urea on the voluntary intake of oat straw. *Br. J. Nutr.* 16: 115-124.
- CONWAY, E.J. y O'MALLEY, E. 1942. Microdiffusion methods. Ammonia and urea using buffered absorbents. *Biochem. J.* 36: 655-661.
- COOMBE, J.B. y TRIBE, D.E. 1963. The effects of urea supplements on the utilization of straw plus molasses diets by sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 14: 70-91.
- COTTRILL, B.R.; BEEVER, D.E.; AUSTIN, A.R. y OSBOURN, D.F. 1982. The effect of protein - and non - protein - nitrogen supplements to maize silage on total amino acid supply in young cattle. *Br. J. Nutr.* 48: 527-541.
- EGAN, J.K. y DOYLE, P.T. 1985. Effect of intraruminal infusion of urea on the response in voluntary food intake by sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 36: 483-495.
- EGGUM, B.O.; BEAMES, R.M.; WOLSTRUP, J. y BACH KNUDSEN, K.E. 1984. The effect of protein quality and fibre level in the diet and microbial activity in the digestive tract on protein utilization and energy digestibility in rats. *Br. J. Nutr.* 51: 305-314.
- ERFLE, J.D.; MAHADEVAN, D. y SAUER, F.D. 1979. Effect of diet quality on adenosine - 5' - triphosphate concentration and adenylate charge of rumen microbes from fistulated cows. *J. Dairy Sci.* 62: 284-291.
- FORBES, J.M. 1986. The voluntary intake of farm animals. Butterworths, U.K., 206 pp.
- GILL, M. y ENGLAND, P. 1984. Effect of degradability of protein supplements on voluntary intake and nitrogen retention in young cattle fed grass silage. *Anim. Prod.* 39: 31-35.
- GILL, M.; BEEVER, D.E.; BUTTERY, P.J.; ENGLAND, P.; GIBB, M.J. y BAKER, R.D. 1987. The effect of oestradiol - 17 β implantation on the response in voluntary intake, live - weight gain and body composition to fishmeal supplementation of silage offered to growing calves. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 108: 9-16.
- GRUMMER, R.R.; CLARCK, J.H.; DAVIS, C.L. y MURPHY, M.R. 1984. Effect of ruminal ammonia - nitrogen concentration on protein degradation in situ. *J. Dairy Sci.* 67: 2294-2301.
- HA, J.K.; KENNELLY, J.J. y BERZINIS, R. 1986. Effect of dietary nitrogen source on microbial protein synthesis, dietary protein degradation and nutrient digestion in steers. *Anim. Feed Sci. Technol.* 14: 117-126.
- HARRISON, D.G. y MCALLAN, A.B. 1980. Factors affecting microbial growth yields in the reticulo - rumen. In: digestive physiology and metabolism in ruminants (Ruckebusch, Y. y Thivend, P. eds.), MTP. U.K., pp 205-226.

- HORTON, G.M.J. y NICHOLSON, H.H. 1981. Nitrogen sources for growing cattle fed barley and either wheat straw or dehydrated alfalfa. *J. Anim. Sci.* 52: 1143-1149.
- HUNGATE, R.E. 1969. A roll - tube method for cultivation of strict anaerobes. *Methods Microbiol.* 3B: 117-132.
- HUQUE, Q.M.E. y THOMSEN, K.V. 1984. Source of nitrogen for rumen microbes. *Acta Agric. Scand.* 34: 26-32.
- KELLAWAY, R.C. y LEIBHOLZ, L. 1983. Effects of nitrogen supplements on intake and utilization of low - quality forages. *World Anim. Rev.* 48: 33-37.
- KROPP, J.R.; JOHNSON, R.R.; MALES, J.R. y OWENS, F.N. 1977. Microbial protein synthesis with low quality roughage rations: Isonitrogenous substitution of urea for soybeanmeal. *J. Anim. Sci.* 46: 837-843.
- LEE, G.J.; HENNESSY, D.W.; NOLAN, J.V. y LENG, R.A. 1987. Response to nitrogen and maize supplements by young cattle offered a low quality pasture hay. *Aust. J. Agric. Res.* 38: 195-207.
- LOERCH, S.C.; BERGER, L.L.; GIANOLA, D. y FAHEY, G.C. 1983. Effects of dietary protein source and energy level on in situ nitrogen disappearance of various protein sources. *J. Anim. Sci.* 56: 206-216.
- MAENG, W.J.; VAN NEVEL, C.J.; BALDWIN, R.L. y MORRIS, J.G. 1976. Rumen microbial growth rates and yields: Effects of amino acids and protein. *J. Dairy Sci.* 59: 68-79.
- MCALLAN, A.B. y SMITH, R.H. 1983. Factors influencing the digestion of dietary carbohydrates between the mouth and abomasum of steers. *Br. J. Nutr.* 50: 445-454.
- MCMANUS, W.R.; MANTA, L.; MCFARLANE, J.D. y GRAY, A.C. 1972. The effects of diet supplements and gamma irradiation on dissimilation of low - quality roughages by ruminants. I. Studies on the terylene - bag technique and effects of supplementation on base ration. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 79: 27-40.
- MEHREZ, A.Z.; ORSKOV, E.R. y MCDONALD, I. 1977. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. *Br. J. Nutr.* 38: 437-443.
- OLDHAM, J.D.; BUTTERY, P.J.; SWAN, H. Y LEWIS, D. 1977. Interactions between dietary carbohydrate and nitrogen and digestion in sheep. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 89: 467-479.
- ORSKOV, E.R.; FRASER, C. y MCDONALD, I. 1971. Digestion of concentrates in sheep. 2. The effect of urea or fishmeal supplementation of barley diets on the apparent digestion of protein, fat, starch and ash in the rumen, the small intestine and the large intestine and calculation of volatile acid production. *Br. J. Nutr.* 25: 243-251.
- ROOKE, D.N. y ARMSTRONG, D.G. 1987. The digestion by cattle of silage and barley diets containing increasing quantities of fishmeal. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 109: 261-272.
- SALTER, D.N.; DANESHVAR, K. y SMITH, R.H. 1979. The origin of N incorporated into compounds in the rumen bacteria of steers given protein - and urea - containing diets. *Br. J. Nutr.* 41: 197-209.
- SAS. 1985. *SAS User's Guide: Statistics*. SAS Inst., Cary, North Carolina, U.S.A., 584 pp.

- SATTER, L.D. y ROFFLER, R.E. 1976. Relationship between ruminal ammonia and non - protein nitrogen utilization by ruminants. In: Tracer studies on non - protein nitrogen for ruminants III, Viena, Austria, pp. 119-138.
- SMITH, T.; BROSTER, V.J. y HILL, R.E. 1980. A comparison of supplementary nitrogen for young cattle receiving fibre - rich diets. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 95: 687-695.
- SMITH, T.; GRIGERA-NAON, J.J. y BROSTER, W.H. 1983. Nitrogen use in diets containing processed straw. IV Int. Symp. Protein Metabolism and Nutrition, Les Colloques de l'Inra, 16, pp. 145-148.
- SMITH, T.; SIVITER, J.W. y MERRY, R.J. 1985. Further comparisons of energy and protein sources for growing cattle. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 104: 485-481.
- STRITZLER, N.P. 1988. The effect of nitrogen and energy supplementation on the digestion of non - starch polysaccharides and microbial activity in the rumen of cows fed fibre - rich diets. Ph. D. Thesis, The Royal Vet. Agric. Univ., Copenhagen, Dinamarca, 249 pp.
- STRITZLER, N.P. 1990. Efecto de la suplementación con harina de soja sobre algunos parámetros ruminales (resumen). *Rev. Arg. Prod. Anim.* 10 (supl. 1): 9.
- STRITZLER, N.P.; GALLARDO, M. y GINGINS, M.A. 1983. Suplementación nitrogenada en forrajes de baja calidad. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 3: 283-309.
- THOMSEN, K.V. 1985. The specific nitrogen requirements of rumen microorganisms. *Acta Agric. Scand.* 37: 437-448.
- THOMSEN, K.V. y JOHNSEN, F. 1984. Availability of nitrogen in different protein sources, particularly as regards fish viscera silage for in vitro digestibility of starch and cellulose. *Acta Agric. Scand.* 34: 17-25.
- VARVIKKO, T. 1987. Performance of and amino acid utilization by growing bulls fed isonitrogenous diets supplemented with untreated or formaldehyde treated soybeanmeal, rapeseed meal or urea. *Acta Agric. Scand.* 37: 437-448.
- VIK-MO, L y LINDBERG, J.E. 1985. In sacco degradability of protein (N) and dry matter in samples of individual feeds or combinations tested with diets medium or high in protein. *Acta Agric. Scand.* 35: 117-128.
- WESTON, R.H. 1967. Factors limiting the intake of feed by sheep. II. Studies with wheaten hay. *Aust. J. Agric. Res.* 18: 983-1002.
- WOLSTRUP, J. y JENSEN, K. 1976. Adenosine triphosphate in the bovine rumen during maximum nutrient supply and starvation. *J. Appl. Bacteriol.* 41: 243-250.
- WOLSTRUP, J. y JENSEN, K. 1978. Adenosine triphosphate and desoxiribonucleic acid in the alimentary tract of cattle fed different nitrogen sources. *J. Appl. Bacteriol.* 45: 49-56.

GRAFICO 1: Concentración de amoniaco
(en mg/100 ml) en líquido
ruminal.

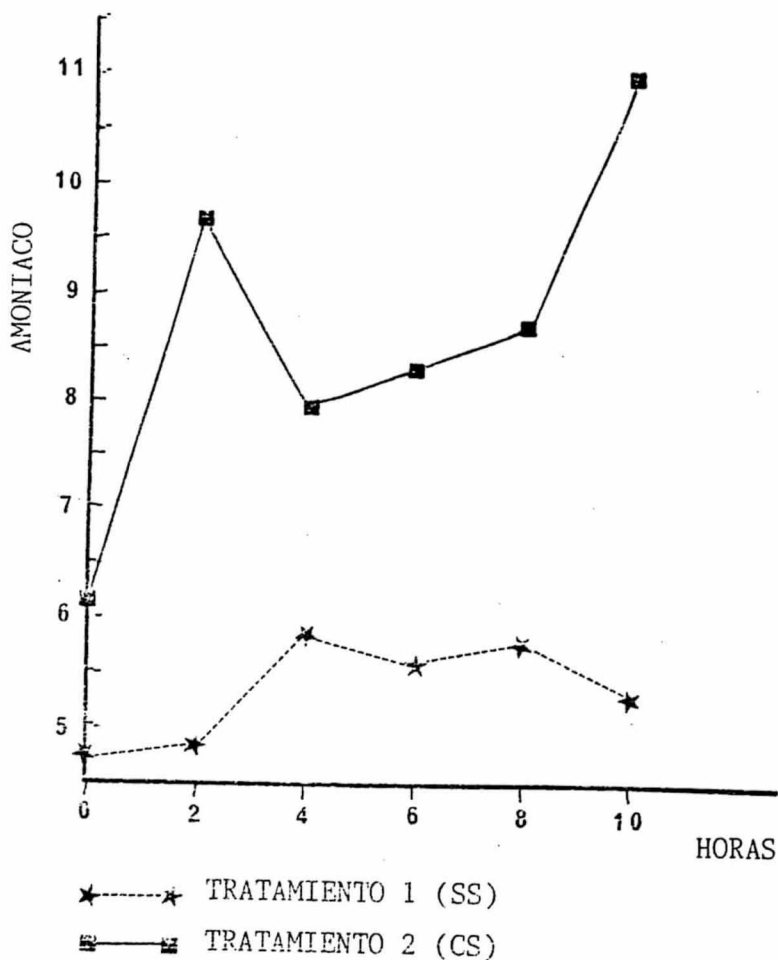


GRAFICO 2: Concentración de ATP (en $\mu\text{g/ml}$)
en población bacteriana del rumen.

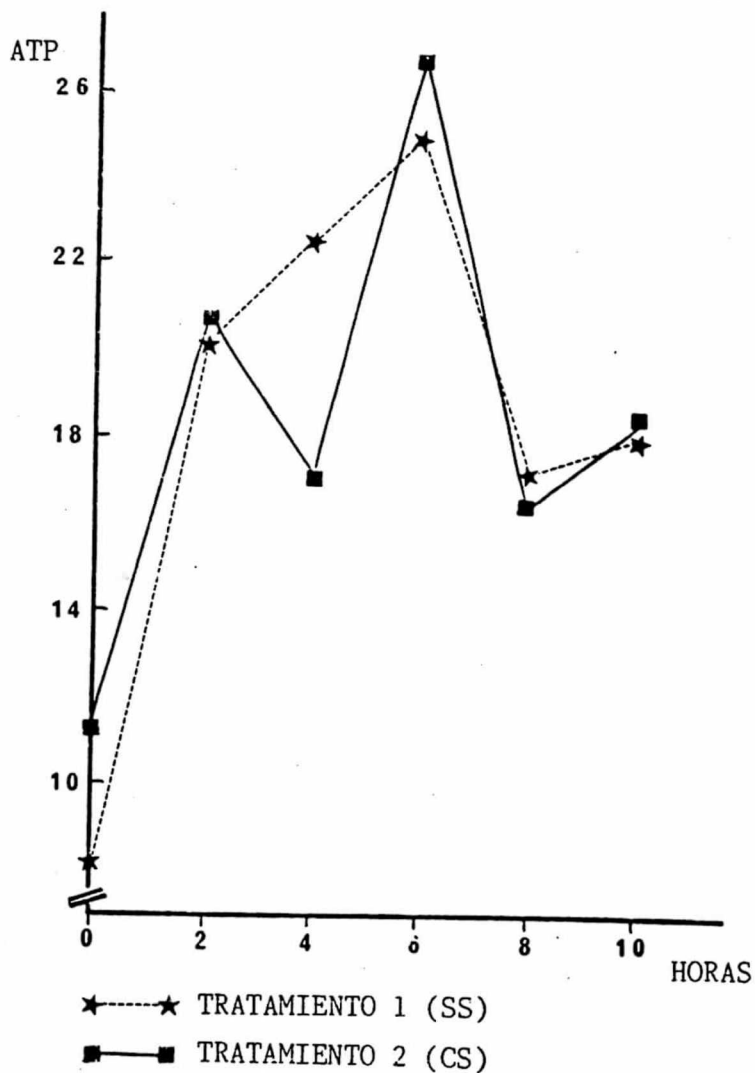


GRAFICO 3: Concentración de ácidos grasos volátiles (en mmol/100 ml) en líquido ruminal.

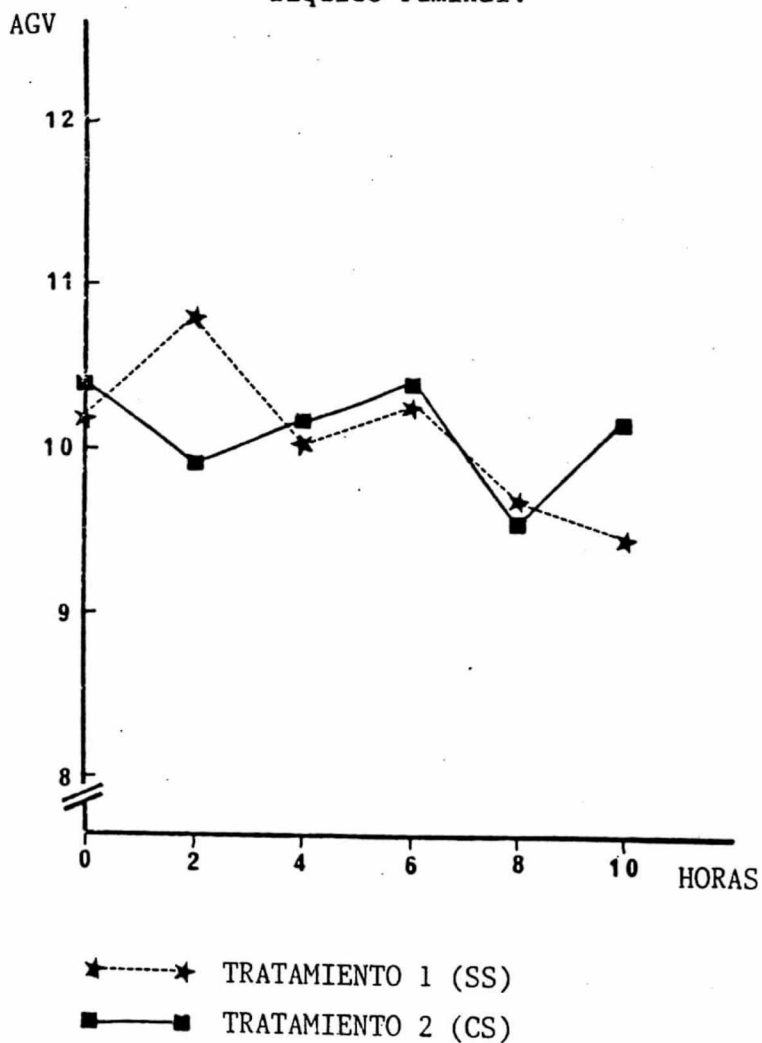


GRAFICO 4: Concentración de ácido acético
(en mmol/l) en líquido ruminal.

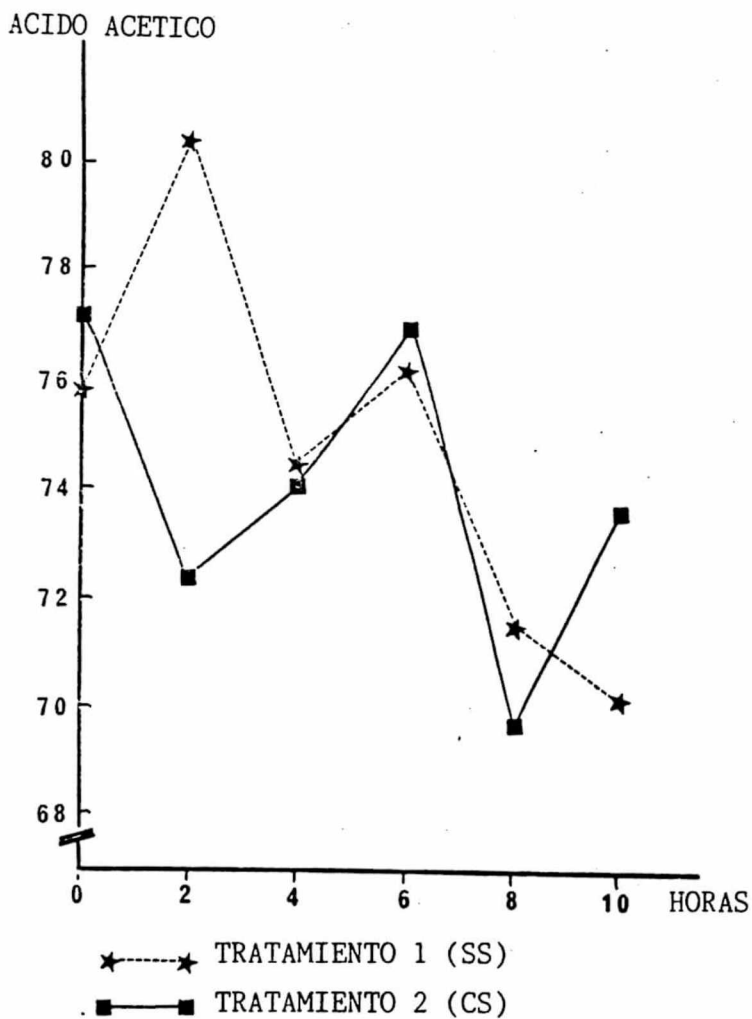


GRAFICO 5: Concentración de ácido propiónico
(en mmol/l) en líquido ruminal.

ACIDO PROPIONICO

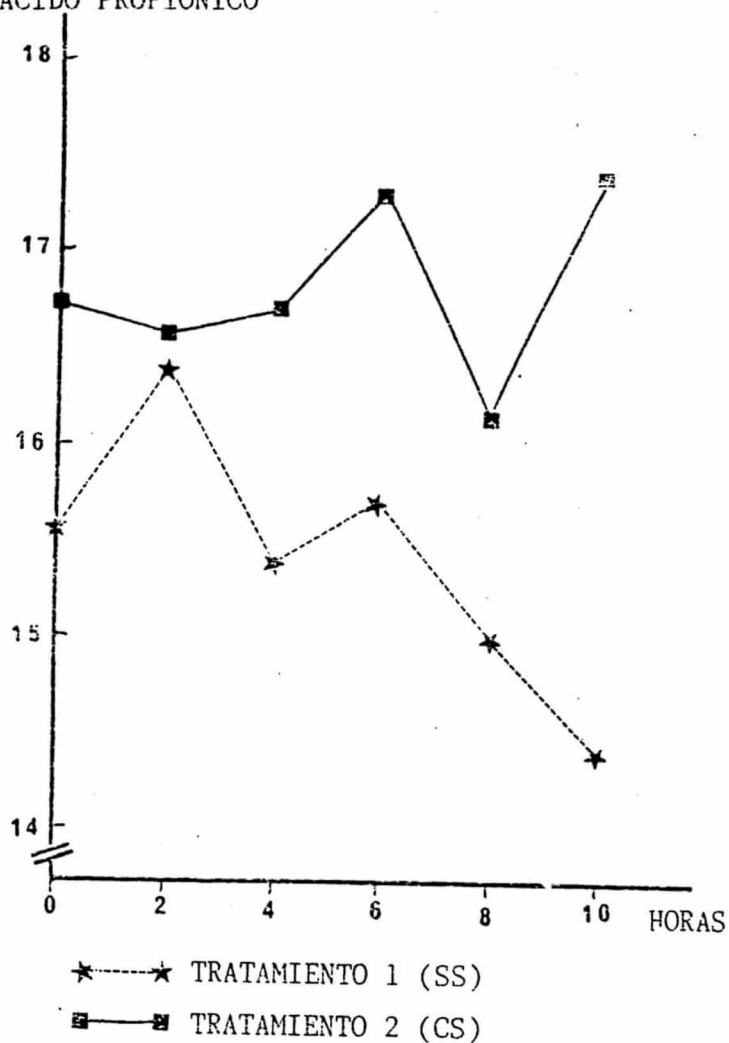


GRAFICO 6: Concentración de ácido butírico
(en mmol/l) en líquido ruminal.

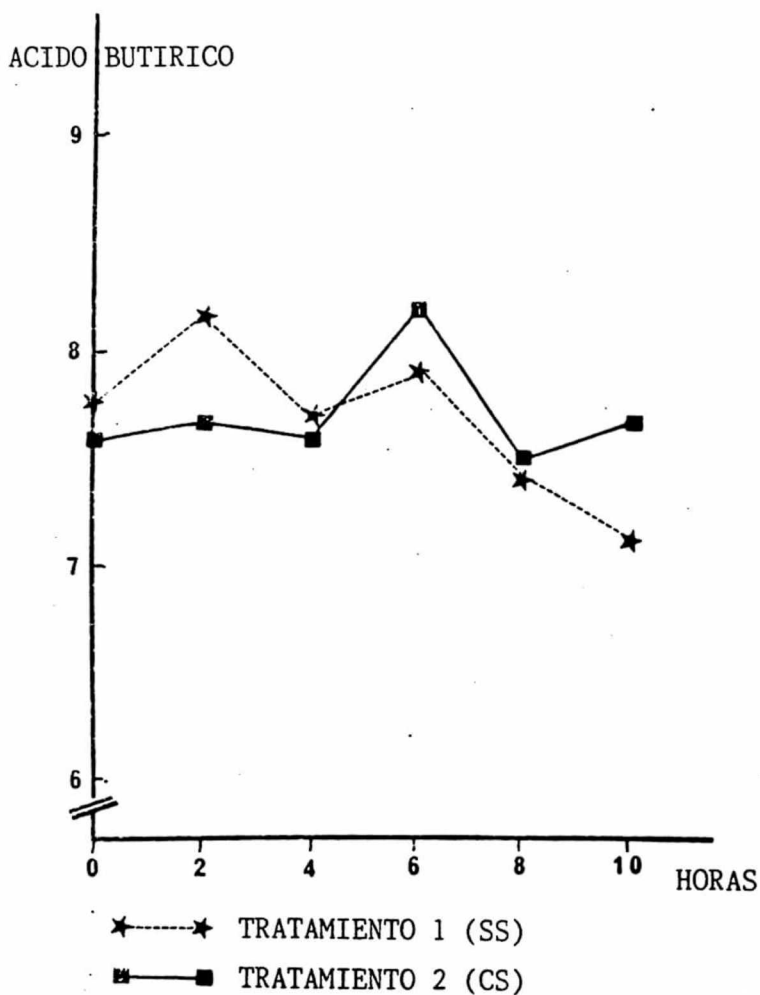


GRAFICO 7: Concentración de los restantes ácidos grasos volátiles (en mmol/l) en líquido ruminal.

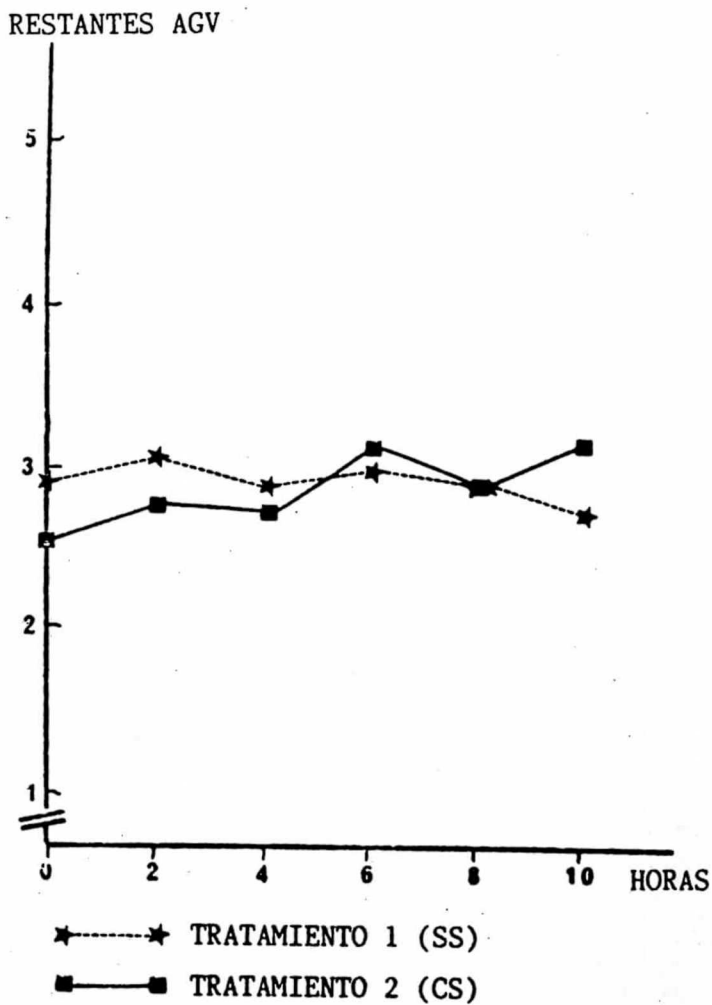
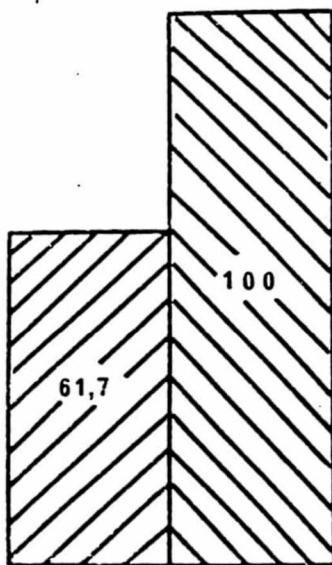


GRAFICO 8: Comparación relativa (en %) de la población bacteriana del rumen.



TRATAMIENTO 1 (SS)



TRATAMIENTO 2 (CS)