

- 4) CARPENTER, K.J. y BOOTH, V.H. (1973). Damage to lysine in food processing: its measurement and its significance. *Nutr. Abstr. and Reviews*, 43 (6), 423-450.
- 5) KAISER, A.G.; OSBOURN, D.F. y ENGLAND, P. (1982). Intake and digestion of formaldehyde treated red clover silages offered to calves either alone or with a urea supplement. *J. Agric. Sci. Camb.*, 98 (2), 357-369.
- 6) KAKADE, M.I. y LIENER, I.E. (1969). Determination of available lysine in proteins. *Anal. Biochem.*, 27, 273-280.
- 7) KILKINSON, J.M. y col., (1976). Acidity and proteolysis as factors affecting the nutritive value of corn silage. *J. Anim. Sci.*, 42 (1), 208-218.
- 8) MCDUGALL, E.L. (1948). Studies of ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochem. J.*, 43, 99-109.
- 9) ØRSKOV, E.R. y MEHREZ, A.Z. (1977). Estimation of extent of protein degradation from basal feeds in the rumen of sheep. *Proc. Nutr. Sc.*, 36, 78A.
- 10) SATTER, L.R. (1978). Protein solubility and degradability. What do they mean for ruminants? *Florida Nutr. Conf.*, 95.
- 11) SIDONS, R.C. y col. (1984). The effect of formaldehyde or glutaraldehyde application to lucerne before ensiling on silage fermentation and silage N digestion in sheep. *Br. J. Nutr.*, 52 (2), 391-401.
- 12) TILLEY, J.M. y TERRY, R.A. (1963). A two stage technique for the «in vitro» digestion of forage crops. *J. Br. Grassld. Soc.*, 18, 104-111.

PROTEOLISIS EN LOS ENSILADOS Y SU VALORACION

Por M.^a C. Carpintero Gigosos (1)
M.^a E. de la Concha Vázquez (2)

III. Metabolismo del ensilado de alfalfa en el rumen. Experimentos «in vivo»

INTRODUCCION

En los rumiantes el proceso de la fermentación ruminal precede al de la digestión gástrica. En él se utilizan como sustratos tanto los componentes estructurales del forraje como los formados en la fermentación sufrida durante el proceso de ensilaje. Así, las proteínas, carbohidratos y todos los demás sustratos fermentables serán convertidos simultáneamente a ácidos grasos volátiles (A.G.V.), metano, dióxido de carbono, amoníaco y proteína microbiana.

La producción de amoníaco en el rumen se relaciona con la utilización de la proteína en la dieta^{2, 15}. Cuando ésta tiene como base el ensilado conservado con diferentes aditivos, el grado de proteolisis en el silo y la proteína protegida obtenida va a modificar el ritmo de fermentación de ésta en el rumen del animal, así como su grado de utilización.

La formación en el ensilado de ácidos grasos volátiles y su concentración, puede ser modificada por la utilización de un conservador adecuado. En el rumen del animal alimentado con estos ensilados la degradación de los carbohidratos a ácidos, y sus re-conversiones metabólicas, pueden originar una relación de concentración acético-propiónico más adecuada desde el punto de vista nutricional de estos ensilados.

En este trabajo se pretende conocer el metabolismo ruminal de ensilados de alfalfa y el efecto de los conservadores utilizados en ellos.

(1) Estación Agrícola Experimental del C.S.I.C. León.

(2) Departamento de Producción Animal.

MATERIAL Y METODOS

Se ensiló alfalfa (*Medicago sativa*, var. Aragón) con un contenido en M.S. de 220 g./Kg., un 98.4 g./Kg. (M.S.) de carbohidratos solubles y 35.6 g./Kg. (M.S.) de NT, en depósitos cilíndricos de 200 Kg. de capacidad.

El material fue troceado con una picadora mecánica, se añadió el conservador y finalmente fue compactado convenientemente. Se utilizaron muestras duplicadas, para cada uno de los cinco tratamientos.

- Testigo.
- Ácido fórmico 5 l/t (ácido del 85%).
- Formalina 5 l/t (4.2 g. de formaldehído/ 100 g. de P.B. del forraje).
- Melazas 40 Kg./t.
- Calor (40°C. durante una hora).

El tratamiento del forraje con calor fue realizado en un secadero de lúpulo. Aunque se intentaba alcanzar una temperatura más alta, dificultades técnicas impidieron que ésta pasara de los 40°C.

Los silos se abrieron después de 160 días y muestras medias de los duplicados fueron introducidas en bolsas de plástico (12 Kg.). Estas bolsas se congelaron a -30°C y conservadas a dicha temperatura hasta el momento de su utilización en la alimentación de ovejas con fistula ruminal.

Los ensilados se analizaron y la materia seca fue obtenida por destilación con tolueno¹. Las determinaciones de pH, carbohidratos y fracciones nitrogenadas se llevaron a cabo sobre material fresco. Los contenidos en fibra neutro-detergente (F.N.D.) y ácido-detergente (F.A.D.), así como la lignina, se analizaron sobre materia seca liofilizada. Estas determinaciones de fibra se realizaron por el método de Goering y Van Soest³.

El resultado de los análisis viene expresado en la Tabla I.

Con cada tipo de ensilado, descongelado el día anterior a su utilización, se alimentaron dos ovejas durante 15 días en raciones de mañana y tarde, «ad libitum» y sin ningún otro suplemento. Una prueba adicional fue realizada empleando alfalfa henificada. El día 14 del experimento en cada uno de los tratamientos se tomaron muestras de rumen a tres momentos diferentes: a las 9 horas antes de ser suministrado el alimento, a las 11.30 horas y a las 14.30. El contenido se extrajo en volúmenes iguales de cada una de las ovejas, mezclado y puesto en un termo dentro de una nevera portátil para su traslado inmediato al laboratorio.

El pH se midió de forma inmediata. A una parte alícuota de 100 ml de rumen, una vez separadas las partículas fibrosas, se adicionaron 2 ml de solución saturada de Cl_2Hg . Esta solución fue centrifugada y 25 ml del líquido sobrenadante se conservaron a -25°C para la determinación de los ácidos grasos volátiles.

Una parte alícuota del rumen se llevó a pH 9.3 con OHNa 4N. La muestra se evaporó en rotavapor para eliminar el agua, y el residuo se aciduló de nuevo con ácido orto-fosfórico y los ácidos se determinaron por cromatografía de gases.

El N-soluble se determinó precipitando la proteína de otra parte alícuota del rumen con ácido tricloroacético a una concentración final de 50 g./l. En el filtrado, el N-soluble se determinó por el método de Kjeldahl. El N-proteico se obtuvo por diferencia entre el N total en el rumen y su N-soluble. El N-amoniaco (N-NH_3) se determinó directamente con un medidor de iones selectivos EIL-7030 con electrodo de amoniaco.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los ensilados de alfalfa obtenidos se caracterizan por un pH y grado de proteolisis alto, con un nivel de N-NH_3 muy elevado principalmente en el silo testigo y en el tratado con calor. No obstante, el empleo de conservadores, protegió parte de la proteína del forraje. El ácido fórmico y el formaldehído mostraron un efecto análogo incrementando en un 20% la proteína del silo testigo. (Tabla I).

Los valores de pH del rumen (Tabla II) en el momento de máxima fermentación, después de dos horas y media de ingerido el alimento, no descendieron al nivel que lo hizo el heno. Este factor no parece que sea muy limitante dentro del rumen y sólo presentaría problemas si se produce una acidez excesiva ($\text{pH} < 5$), en cuyo caso la producción de metano cesaría y la concentración de NH_3 descendería considerablemente³.

La concentración total de A.G.V. disminuyó por efecto de los tratamientos frente al testigo. En el silo tratado con melazas, o con calor, esta concentración es análoga a la del heno. En ensilados de alfalfa, Siddons⁷ encontró una reducción de esta concentración con el empleo de ácido fórmico o formaldehído como aditivos. En los ácidos considerados individualmente (figura 1) la concentración molar de acético disminuyó ligeramente en los ensilados con formaldehído frente al testigo a expensas de un incremento en propiónico (58:20). Este incremento en ácido propiónico representaría una más eficiente utilización de la energía por ser éste el único ácido glucogénico.

La producción de NH_3 en el rumen está relacionada con la utilización de la proteína. McDonald⁵ cita como niveles de concentración de NH_3 en el rumen los de 275 y 182 mg./l para dietas de alfalfa y trébol, respectivamente. Estas cifras aumentan en los ensilados y disminuyen por el secado. En buenos ensilados se encuentran concentraciones que varían de 195 a 450 mg./l NH_3 . En nuestro trabajo estos valores oscilan entre 287 y 462 mg./l. de rumen. Para el heno este valor fue de 235 (figura 2). Los valores de este N-amoniaco en el ensilado con melazas o con formaldehído son menores que el testigo, y más altos en el ensilado con ácido fórmico o calor.

La reducción de la formación de amoniaco en el rumen por el tratamiento con formaldehído ha sido confirmada por varios autores^{4, 6, 7}. En los ensilados tratados con calor, esta producción más alta de amoniaco fue debida, en parte, al mayor grado de proteolisis ocurrida en el silo y al bajo nivel de carbohidratos residuales. El ritmo de fermentación de esta proteína parece haber sido más lento, el nivel de NH_3 en el rumen se mantiene alto después de 5 horas y media y ello induce a pensar en una mejor utilización que si la producción hubiera sido más puntual. La baja temperatura utilizada (40°C) no fue suficiente para proteger eficientemente más proteína en el silo, pero sí para mejorar su utilización.

RESUMEN

Alfalfa (*Medicago sativa*) fue ensilada con diferentes tratamientos: ácido fórmico (5 l./t) formaldehído (4.2 g/100 g. de P.B. del forraje), melazas (40 Kg./t), calor (40°C durante una hora) y sin conservador alguno.

La proteína no degradada en los silos se incrementó por efecto de los conservadores. Cuando se utilizó ácido fórmico o formaldehído este aumento fue de un 20% respecto al silo testigo.

La concentración total de ácidos grasos volátiles (A.G.V.) en el rumen de los anima-

les que recibieron estos ensilados disminuyó por efecto de los conservadores, siendo para los ensilados con melazas o calor, análoga a la encontrada cuando la dieta fue en forma de heno.

El tratamiento previo con calor (40°C) del forraje al ensilar, produjo una disminución del contenido en ácido acético en el rumen del animal, y un incremento en ácido propiónico, alcanzándose una relación acético:propiónico (58:20) indicadora de una eficiente utilización de la energía.

La concentración en N-amoniaco en el rumen osciló entre 287 y 462 mg./l. para los ensilados con melazas o ácido fórmico respectivamente. Cuando el ensilado que recibió el animal fue el obtenido con el tratamiento térmico previo del forraje, la concentración elevada de amoniaco en el rumen se mantiene después de cinco horas y media lo que supondría un posible mejor aprovechamiento de la proteína conservada.

PROTEIN BREAKDOWN IN SILAGES TO PREDICT THE NUTRITIVE VALUE OF SILAGES

III. «In vivo» experiments. Metabolism in the rumen of lucerne silages

SUMMARY

Lucerne (*Medicago sativa*) was ensiled with formic acid (5 l./t.), formaldehyde (4.2.

TABLA I
Composición química de los ensilados de alfalfa (g./Kg. M.S.)

Tratamientos	PARAMETROS ANALIZADOS									
	M.S. (g/Kg)	pH	Carboh. solubles	N-total	N-soluble	N-NH ₃ (g/Kg NY)	N-Proteico (g/Kg NY)	FND	FAD	Lignine
Testigo	210.1	6.2	14.6	37.1	25.9	208	302	403.7	310.8	57.5
Acido fórmico (5 l./t ácido 85%)	238.6	5.7	25.7	33.0	16.6	171	510	375.4	282.8	60.8
Formaldehido (5 l./t sol. 40%)	198.0	5.8	25.2	37.7	18.5	152	509	429.7	316.3	64.2
Melazas (40 Kg./t)	222.2	5.0	33.4	36.1	21.6	156	402	363.1	278.8	59.1
Calentado (1 h. 40°C)	206.8	6.0	11.7	37.0	22.8	221	384	401.1	311.7	59.9

FND. Fibra neutro detergente

FAD. Fibra ácido detergente

TABLA II
Características del rumen en ovejas alimentadas por ensilados con diferentes conservantes

Alfalfa	Tiempo de muestreo		
	9.00	11.30	14.30
pH	7.4	6.7	6.8
NT (mg/l)	490	550	400
AGV (mmol/l)	29.1	83.0	92.3
<u>Silo testigo</u>			
pH	7.8	7.2	7.1
NT (mg/l)	460	890	530
AGV (mmol/l)	29.8	150.3	71.0
<u>Silo con Acido fórmico</u>			
pH	7.5	7.0	7.6
NT (mg/l)	570	1050	585
AGV (mmol/l)	88.9	91.3	109.6
<u>Silo con formaldehido</u>			
pH	7.5	7.0	7.4
NT (mg/l)	590	900	530
AGV (mmol/l)	77.8	87.8	52.8
<u>Silo con melazas</u>			
pH	7.9	7.4	7.6
NT (mg/l)	610	710	430
AGV (mmol/l)	32.8	81.1	71.9
<u>Silo con calor</u>			
pH	7.7	7.0	7.0
NT (mg/l)	500	1040	905
AGV (mmol/l)	81.6	81.5	103.9

AGV. Acidos grasos volátiles

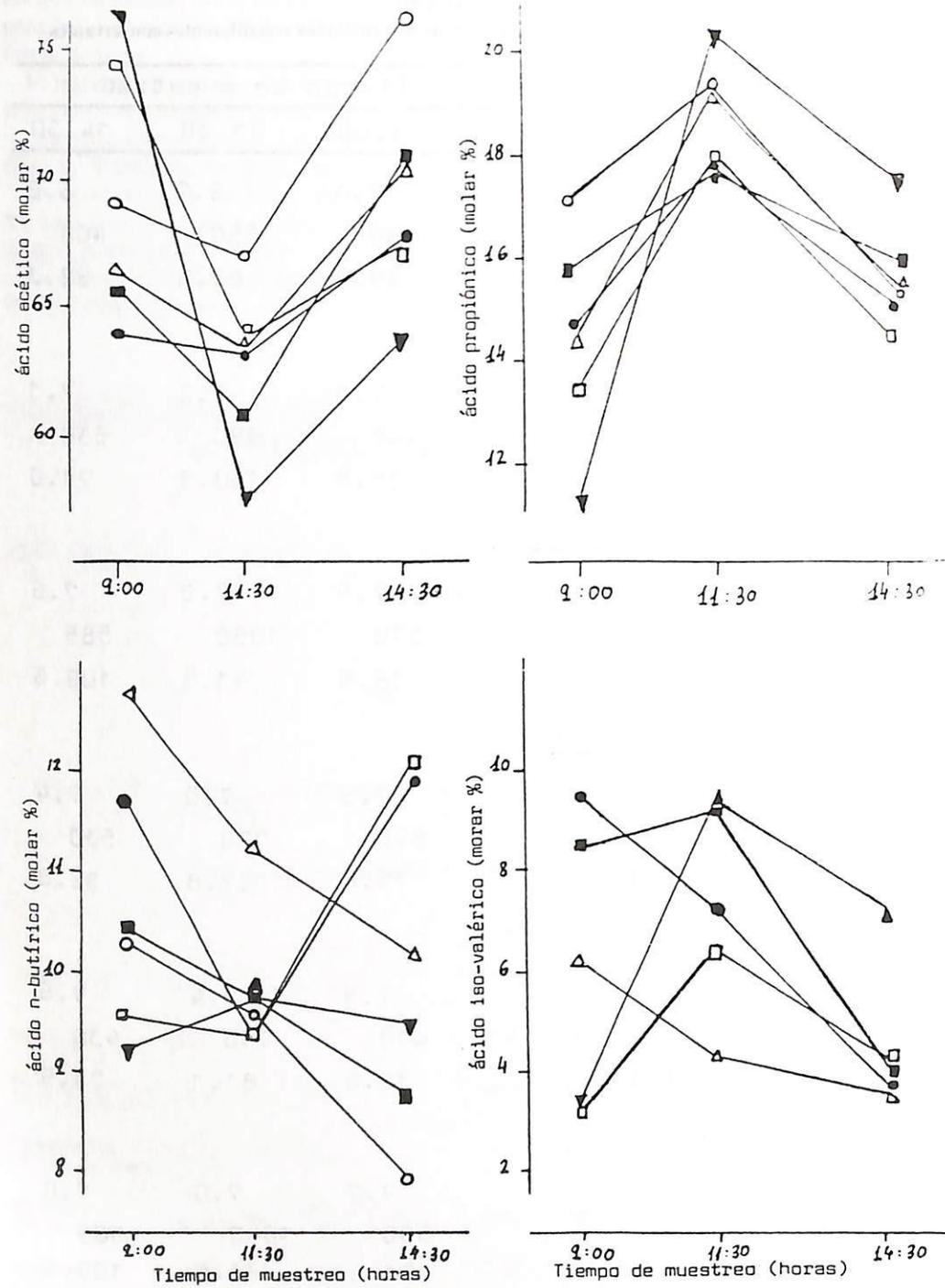


Fig. 1.- Contenido en ácidos del rumen de ovejas alimentadas con ensilados conservados con distintos tratamientos (mol: 100 moles totales de ácidos grasos volátiles). ○ alfalfa hemicidada; ● silo testigo; □ silo con ácido fórmico; ■ silo con formalina; △ silo con melazas; ▲ silo calentado.

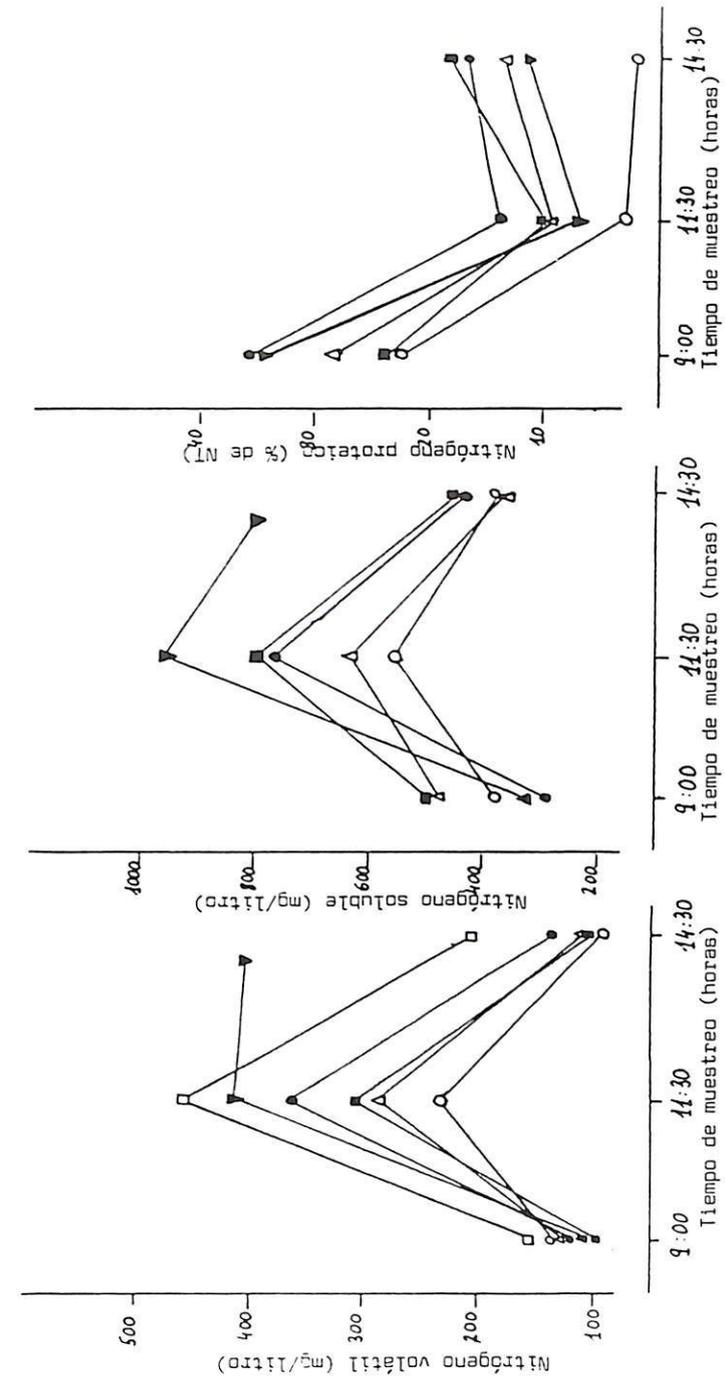


Fig. 2.- Contenido en fracciones nitrogenadas en el rumen de ovejas alimentadas con ensilados conservados con distintos tratamientos. ○ alfalfa hemicidada; ● silo testigo; □ silo con ácido fórmico; ■ silo con formalina; △ silo con melazas; ▲ silo calentado.

g./100 g. of crude protein), molasses (40 Kg./t.), low temperature (40°C for 1 hour) and control.

Formic acid and formaldehyde afforded protein protection within the silo, increasing in 20% the protein content of the control silages.

Silage metabolism was studied in mature sheep fitted with a rumen cannula.

Total volatile fatty acids content in the rumen, tended to decrease due to silage treatment, being for the molasses and heat treated similar to a hay diet. A ratio acetic/propionic acid (58:20) in the rumen was attained when the silage made with the heat treatment was given to the animals.

Rumen ammonia levels ranged between 287 and 462 mg./l for the silages with molasses and formic acid respectively. With the heat treatment, the ammonia concentration still remain high (440 mg/l) five hours after feeding. This could result in a better use of the protected protein.

BIBLIOGRAFIA

- 1) DEWAR, W.A. & MCDONALD, P. (1961). Determination of dry matter in silage by distillation with toluene. *J. Sci. Food Agric.*, 12 790-795.
- 2) DONALDSON, E. & EDWARDS, R.A. (1980). Metabolism within the rumen of silages made with formaldehyde. *Br. Grassld. Soc. Occ. Symp. No. 11, Brighton, 1979*, 350-355.
- 3) ERFLE, J.D. y col. (1982). Effect of pH fermentation characteristics and protein degradation by rumen microorganisms in vitro. *J. Dairy Sci.*, 65 (8), 1.457-1.464.
- 4) GOERING, M.K. y VAN SOEST, P.J. (1970). forage fiber analysis. *Agric. Handbook*, 379, Agric. Res. Serv. U.S.D.A.
- 5) MCDONALD, P. y EDWARDS, R.A. (1976). The influence of conservation methods on digestion and utilization of forages by ruminants. *Proc. Nutr. Soc.*, 35, 201-211.
- 6) SIDDONS, R.C.; EVANS, R.T. & BEEVERS, D.E. (1979). The effect of formaldehyde treatment before ensiling on the digestion of wilted grass silage by sheep. *Br. J. Nutr.*, 42 (3), 535-545.
- 7) SIDDONS, R.C. y col. (1984). The effect of formaldehyde or glutaraldehyde application to lucerne before ensiling on silage N digestion in sheep. *Br. J. Nutr.*, 52 (2), 391-401.

RELACION ENTRE EL POTENCIAL LECHERO Y LA RESPUESTA DE PRODUCCION AL DESCENSO EN EL PLANO DE ALIMENTACION EN EL GANADO OVINO DE APTITUD LACTEA

Por P.J. Alvarez (1)
J.A. Guada (2)

INTRODUCCION

La alimentación del ganado ovino lechero durante la fase de lactación exige en la mayoría de los casos, como ocurre con el ganado vacuno de la misma aptitud, el aporte, por un lado, de una ración basal para atender las necesidades de mantenimiento y, por otra parte, de un pienso concentrado destinado a la propia producción láctea, que acostumbra a suministrarse durante el ordeño, aunque esta distribución obedece más bien a un planteamiento netamente teórico. No suele ser normal que haya limitaciones en la disponibilidad de los alimentos voluminosos, pero puede que ocurra con los concentrados, en cuyo caso es patente una disminución en la producción de leche de los animales.

Mientras que en el ganado vacuno lechero se ha determinado el descenso, en la producción como respuesta a una reducción en el aporte de energía^{3,5,6}, no sabemos que en el ganado ovino de aptitud láctea se haya cuantificado dicha respuesta, cuyo conocimiento consideramos importante para un manejo adecuado de la alimentación de este tipo de ganado.

En el presente trabajo se pretende conocer y cuantificar la respuesta que la producción de leche de oveja experimenta cuando se limita el aporte de energía en relación a la asignación correspondiente a la tasa de secreción láctea. Para ello hemos utilizado datos procedentes de una serie de pruebas realizadas por nosotros en la Estación Agrícola Experimental de León, en las cuales se controló tanto el consumo de alimentos como la producción de leche de las ovejas.

(1) Dpto. de Producción Animal.

(2) Dpto. de Alimentación. Universidad de Zaragoza.

An. Fac. Vet. León, 1986, 32, 137-143