

SUPLEMENTACIÓN CON FUENTES DE PROTEÍNA DEGRADABLE Y NO DEGRADABLE EN EL RUMEN EN VACAS ALIMENTADAS CON *Urochloa humidicola*.

II. FERMENTACIÓN RUMINAL, DEGRADACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y QUÍMICA SANGUÍNEA EN VACAS MESTIZAS

Supplementation With Degradable and Undegradable Protein Sources in Rumen on Cows Fed *Urochloa humidicola*.

II. Ruminal Fermentation, Degradation of Organic Matter and Blood Chemistry on Crossbred Cows

Robert Emilio Mora-Luna^{1*}, Claudio Franco Chicco², Ana María Herrera-Angulo¹, Susmira Godoy³ y Julio Garmendía²

¹Coordinación de Investigación Agropecuaria, Decanato de Investigación. Universidad Nacional Experimental del Táchira (UNET). San Cristóbal, Táchira. Venezuela. *E-mail: robertmora78@gmail.com. ²Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela (UCV). Maracay, Aragua. Venezuela. ³Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-CENIAP). Maracay, Aragua. Venezuela.

RESUMEN

Para evaluar el efecto de la suplementación con fuentes de proteína degradable y no degradable en el rumen, sobre la fermentación ruminal, degradación de materia orgánica (MO) y química sanguínea, se utilizaron dos vacas mestizas por tratamiento de 446,2 ± 29,3 kg fistuladas en el rumen y asignadas a cuatro tratamientos: un testigo alimentado solo con forraje (F) y tres suplementos (1 kg·animal·d⁻¹) que contenían principalmente harina de maíz (HM), harina de pluma hidrolizada (HPH) y harina de soya (HS). Los suplementos contenían 20,7; 42,7 y 42,5% de PC, y 2,8; 2,7 y 2,8 Mcal de EM·kg⁻¹ MS, respectivamente para HM, HPH y HS. Los animales fueron alimentados con heno de *Urochloa humidicola* y se determinó por suspensión *in situ* de bolsas de nylon la degradación (72 h) de MO del forraje y suplementos, y degradación de la proteína de los suplementos, y se evaluó químicamente el líquido ruminal y suero sanguíneo. Los datos se analizaron por ANAVAR bajo un diseño completamente aleatorizado. El pH del líquido ruminal a las 3 h (P<0,05) de consumido el suplemento fue más bajo en HPH respecto a F (6,56 vs. 7,09). El N-NH₃ fue mayor (P<0,05) en HS (3 y 6 h), y los ácidos acético y propiónico a la 0 h fueron más elevados (P<0,05) en HS y HPH. La degradación de MO del forraje fue mayor (P<0,05) en HPH (44,8%) y HS (42,0%). La degradación de MO de los suple-

mentos no presentó diferencias, mientras que la degradación de PC fue más baja (P<0,05) en HPH (64,2%). La urea sanguínea en HS presentó mayores concentraciones (P<0,05) en todos los tiempos de muestreo (21 a 32,8 mg·dL⁻¹). La suplementación con un kg de HS aumentó el nitrógeno amoniacal ruminal, y la suplementación con HS o HPH mejoraron la degradación de MO de forraje.

Palabras clave: Química sanguínea, fermentación ruminal, harina de soya, harina de pluma hidrolizada.

ABSTRACT

In order to evaluate the effect of supplementation with degradable and undegradable protein sources in rumen on ruminal fermentation, degradation of organic matter (OM), and blood chemistry, two crossbred cows per treatment, weighing 446.2 ± 29.3 kg, with rumen fistulae were assigned to any of four treatments: a control fed forage only (F) and three treatment groups fed any supplements (1 kg·Animal·d⁻¹) that contained primarily corn meal (CM), hydrolyzed feather meal (HFM) and soybean meal (SBM). The supplements contained 20.7, 42.7, and 42.5% CP, and 2.8, 2.7, and 2.8 Mcal ME·kg⁻¹ DM, respectively for CM, HFM and SBM. Animals were fed, *Urochloa humidicola* hay and, by suspension *in situ* nylon bags, degradation (72 h) of OM of forage and supplements, and degradation of protein supplements were determined. In addition, ruminal fluid and blood se-

rum were chemically evaluated. Data were analyzed by ANOVA in a completely randomized design. The pH of the rumen fluid at 3 h ($P < 0.05$) post supplement consumption was lower in HFM compared to F (6.56 vs. 7.09). Ammonia nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) was higher ($P < 0.05$) in SBM (3 y 6 h), and acetic and propionic acids at 0 h were higher ($P < 0.05$) in SBM and HFM. Degradation of forage OM was higher ($P < 0.05$) in HFM (44.8%) and SBM (42.0%). The degradation of supplements OM did not differ, whereas degradation of CP was lower ($P < 0.05$) in HFM (64.2%). Serum urea in SBM was higher ($P < 0.05$) in all sampling times (21 to 32.8 $\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$). Supplementation with one kg of SBM increased ruminal ammonia nitrogen, and supplementation either SBM or HFM improved forage OM degradation.

Key words: Blood chemistry, ruminal fermentation, soybean meal, hydrolyzed feather meal.

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo es continuación de uno previo sobre el efecto suplementación con fuentes de proteína degradable (harina de soya, *Glycine max*) y no degradable (harina de pluma hidrolizada) en el rumen en vacas Brahman (*Bos indicus*) de primer parto sobre variables productivas, reproductivas y química sanguínea.

La ganadería vacuna de carne en Venezuela se desarrolla principalmente en zonas donde los forrajes se caracterizan por su bajo contenido de proteína cruda, lo cual se traduce en una baja producción de nitrógeno amoniacal a nivel ruminal, lo que imposibilita una adecuada actividad microbiana, presentando los rumiantes una baja tasa de digestión y tránsito de la digesta con ulterior disminución del consumo [14, 47].

La suplementación con nitrógeno (como nitrógeno no proteico o proteína preformada) cuando éste es limitante, puede aumentar el consumo de forraje [20, 21, 47] y su digestibilidad [20, 22], ambos asociados con un aumento en la concentración de nitrógeno amoniacal [20, 21, 23] y ácidos grasos volátiles [27, 52, 55] en el rumen, y consecuentemente puede mejorar la ganancia de peso [20, 22, 53] y la actividad reproductiva de los rumiantes [40, 63].

Las fuentes de proteína preformada (degradables y no degradables en el rumen) que han mejorado los procesos digestivos en rumiantes [21, 22] han sido las tortas de oleaginosas como ajonjolí (*Sesamum indicum*) y algodón (*Gossypium herbaceum*) y harinas de origen animal (carne y pescado). Es por ello que el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de la suplementación con fuentes de proteína degradable en rumen (PDR) y de proteína no degradable en rumen (PNDR) sobre la degradabilidad *in situ* de la materia orgánica (MO) y proteína cruda (PC), pH, nitrógeno amoniacal (N-NH_3) y ácidos grasos volátiles (AGV) en el líquido ruminal, y sobre la glucosa y urea sanguínea en vacas mestizas alimentadas con forraje de pobre calidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento

El experimento se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Congelación de Semen (CECOSEM) de la Unidad Académica "La Morusca", ubicada en La Fría, municipio García de Hevia del estado Táchira, Venezuela, a una altitud de 70 m.s.n.m., con temperatura promedio de 26,8°C y humedad relativa de 81% [36].

Manejo del experimento

Se utilizaron dos hembras bovinas mestizas por tratamiento [1, 15, 23] con peso vivo (PV) promedio de 446,2 \pm 29,3 kg, fistuladas en el rumen según la metodología descrita por Holmaback-Petersen y col. [29] y provistas de cánulas flexibles de plastisol (Bar Diamond, Inc®, EUA). Las vacas fueron asignadas a cuatro tratamientos experimentales, un testigo que consumía forraje (F) y tres suplementos (1 $\text{kg}\cdot\text{animal}\cdot\text{d}^{-1}$) que contenían principalmente harina de maíz (*Zea mays*; HM), harina de pluma hidrolizada (HPH, como fuente de PNDR) y harina de soya (HS, como fuente de PDR) los cuales se describen en la TABLA I. Las vacas fueron pesadas en una romana con precisión de 0,5 kg (Tebabasca®, Modelo TBG-1500, Venezuela) y alojadas en corrales individuales de 12 x 4 m techados, con acceso a agua *ad libitum* y alimentadas con heno de *Urochloa humidicola*. Los animales tuvieron un periodo pre-experimental de 10 días (d) de acostumbramiento solo al heno y corrales. Adicionalmente fueron desparasitadas con Albendazol al 10% a una dosis de 10 $\text{mL}\cdot 100\text{ kg}^{-1}$ de PV, el cual se suministró vía fístula ruminal. El periodo experimental fue de 18 d de adaptación a los suplementos y 3 d para la medición de las variables respuesta.

Luego de iniciado el experimento, entre las 7:00 y 9:00 horas (h), se restringió el acceso de animales al heno, tiempo en el cual se realizaba la limpieza de los corrales, posteriormente se suministraba el heno, ofertándose el primer día el 2% del PV, mientras que los días siguientes se ofrecía un 20% adicional al consumo del día previo. Al mismo tiempo se les suministraba 1 $\text{kg}\cdot\text{animal}\cdot\text{d}^{-1}$ de cada suplemento experimental. El tratamiento testigo (F) recibió adicionalmente 50 $\text{g}\cdot\text{animal}\cdot\text{d}^{-1}$ de mezcla mineral comercial, la cual fue introducida diariamente en el rumen vía fístula.

El heno fue analizado químicamente (TABLA II). Se determinó la materia seca (MS) en estufa de ventilación forzada THELCO® (Modelo 6M, EUA) hasta alcanzar peso constante y posteriormente fue molido en un molino Thomas Wiley® (Modelo 4, EUA) con tamiz de 1 mm de diámetro. La ceniza se determinó por incineración [5] y PC ($\text{N} \times 6,25$) a partir del nitrógeno obtenido por el método Kjeldahl [5]. La fibra en detergente neutro (FDN) y fibra en detergente ácido (FDA) se determinaron por la metodología descrita por Van Soest y Wine [62]. En los suplementos se realizó análisis proximal según Association of Official Analytical Chemists (AOAC) [5] y

TABLA I
COMPOSICIÓN DE LOS SUPLEMENTOS
EXPERIMENTALES

Ingredientes	HM ² (%)	HPH ³ (%)	HS ⁴ (%)
Urea	2,5	2,5	2,5
Sulfato de amonio	4	4	4
Minerales ¹	5	5	5
Grasa sobrepasante Biolac®	8	8	8
Melaza de caña	5	5	5
Harina de maíz (grano y mazorca molidos)	75,5	45	15
Harina de pluma hidrolizada	-	30,5	-
Harina de soya	-	-	60,5
Composición nutricional (% base seca)			
MS	89,7	92,5	91,0
Ceniza	10,0	12,4	10,6
MO	90,0	87,6	89,4
PC (N x 6,25)	20,7	42,7	42,5
EE	10,2	6,80	6,21
FDN	29,4	22,1	35,4
FDA	8,55	5,77	8,82
Energía Metabolizable ⁵ (Mcal/kg MS)	2,8	2,7	2,8
Proteína degradable en rumen ⁵ (%)	14,8	21,1	31,5
Proteína no degradable en rumen ⁵ (%)	5,30	21,6	11,0

¹%: Ca: 21,6; P: 11,0; Mg: 2,02; Na: 2,65; Cu: 0,04; Zn: 0,17; Fe: 0,15; Mn: 0,17. ²%: Ca: 1,80; P: 1,37; Mg: 0,38; K: 0,80; Na: 0,20; S: 0,85; ppm: Cu: 48; Zn: 305; Fe: 590; Mn: 160. ³%: Ca: 2,10; P: 1,43; Mg: 0,41; K: 0,40; Na: 0,41; S: 1,10; ppm: Cu: 78; Zn: 464; Fe: 870; Mn: 250. ⁴%: Ca: 1,30; P: 0,93; Mg: 0,32; K: 1,20; Na: 0,21; S: 0,74; ppm: Cu: 50; Zn: 216; Fe: 530; Mn: 140. ⁵Valores calculados en base al contenido teórico de las materias primas según National Research Council [37].

TABLA II
COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL HENO DE *Urochloa*
humidicola (BASE SECA)

Variable	MS	PC	MO	C ¹	FDN	FDA
	%					
Heno	89,3	2,63	95,1	4,90	80,5	44,7

¹%: Ca: 0,10; P: 0,07; Mg: 0,08; Na: 0,13; K: 0,64; S: 0,09. ppm: Cu: 0; Zn: 31; Fe: 76; Mn: 348.

FDN y FDA con la misma metodología descrita para el forraje, y sus valores de energía metabolizable, PDR y PNDR fueron calculados según los valores reportados por National Research Council (NRC) [37] para cada materia prima.

La determinación de los minerales (en heno y suplementos) Ca, Mg, Na, K, Zn, Cu, Fe y Mn se realizó por espectrofotometría de absorción atómica [5] en un equipo AAnalyst 100

(Perkin Elmer, EUA), el S se determinó por turbidimetría [57] y el P se analizó por método colorimétrico [12].

En las materias primas principales (HM, HPH y HS) de los suplementos se determinó PC (N x 6,25) y ceniza según AOAC [5], proteína soluble en KOH para HS y HPH [16] y FDN según Goering y Van Soest [24]. Adicionalmente se les determinó digestibilidad *in vitro* de la MS (DIVMS) y MO (DIVMO) con la primera etapa (48 h) de la metodología descrita por Tilley y Terry [60], digestibilidad *in vitro* de la FDN (DIVFDN) y digestibilidad verdadera *in vitro* de la MS (DVIVMS) según Goering y Van Soest [24]. Los animales donantes de fluido ruminal fueron dos vacas raza Carora fistuladas en el rumen con un PV promedio de 600 kg y alimentadas en condiciones de mantenimiento. La ración recibida por estos animales estaba compuesta por 40% de alimento balanceado comercial (18% de PC y 35% de FND) y 60% de forraje constituido por *Cynodon dactylon* (forraje fresco y heno) y silaje de maíz.

Variables evaluadas

pH

Se tomaron muestras de contenido ruminal de diferentes partes del rumen a las 0; 3; 6; 9 y 12 h de consumido el suplemento. El material se colocó sobre tres capas de gasa quirúrgica y fue exprimido fuertemente para extraer el líquido tomándose una alícuota a la cual se le midió inmediatamente el pH con un equipo Inolab® (Modelo pH 730, Alemania).

Nitrógeno amoniacal (N-NH₃) y ácidos grasos volátiles (AGV)

Del líquido ruminal extraído (en cada tiempo de muestreo de pH) se depositaron 50 mL en frascos de plástico que contenían 1 mL de solución saturada de bicloruro de mercurio, con el fin de detener la actividad microbiana e ionizar los componentes volátiles del líquido. Las muestras fueron almacenadas a -20°C en un congelador Bosch® (GSD32, Alemania) hasta su análisis. Para ello se descongelaron y 10 mL del líquido se centrifugaron a 1.770 x g a 4°C por 10 min en una centrífuga Hettich Zentrifugen® (Modelo Universal 32R, Alemania). Luego 1 mL del sobrenadante fue centrifugado a 21.670 x g a 4°C por 30 min, y del sobrenadante se tomaron las alícuotas para determinar N-NH₃ por el método colorimétrico de fenol-hipoclorito descrito por Chaney y Marbach [11], siendo la absorbancia medida en un espectrofotómetro Shimadzu® (Modelo UV-1601, Japón) a una longitud de onda de 625 nm.

Para la determinación de AGV, a 10 mL de líquido ruminal se le agregó 2 mL de ácido metafosfórico al 25%, y la mezcla fue centrifugada a 1.770 x g a 4°C por 10 min. El sobrenadante fue usado para la determinación de ácido acético, propiónico y butírico por cromatografía de gases [18] en un equipo Shimadzu® (Modelo GC-17A, Japón) acoplado a un espectrofotómetro de masa Shimadzu® (Modelo GCMS-QP5000, Japón).

Degradabilidad de la materia orgánica (MO) y proteína cruda (PC)

Se utilizó la técnica descrita por Ørskov y col. [44] de suspensión *in situ* de bolsas (Ankom Technology®, EUA) para determinar la degradabilidad de la MO de forraje, MO y PC (N x 6,25) del suplemento ofrecido a los animales durante ocho tiempos de incubación: 0; 3; 6; 9; 12; 24; 48 y 72 h después del consumo de alimento. El heno fue molido en un molino Thomas Wiley® (Modelo 4, EUA) y se utilizó un tamaño de partícula de 1 a 2 mm. En cada bolsa se introdujeron 6 g de sustrato y dos bolsas por cada tiempo de incubación, las cuales fueron atadas a 1 m de nylon. Luego de introducidas las bolsas se ofertó el suplemento. Después de la extracción de las bolsas del rumen, éstas fueron lavadas con agua, y secadas en una estufa de ventilación forzada THELCO® (Modelo 6M, EUA) a 60°C hasta alcanzar peso constante. Se midió la desaparición (como porcentaje de la cantidad inicial) de la MO del forraje, MO y PC del suplemento a las 0; 3; 6; 9; 12; 24; 48 y 72 h, usando las metodologías descritas por AOAC [5] para la determinación de PC y ceniza.

Química sanguínea

Se tomaron muestras de sangre de la vena yugular a las 0; 3; 6; 9 y 12 h después del consumo de suplemento, utilizando agujas 21Gx1" (BD Vacutainer®, EUA) y la sangre fue depositada en tubos Vacuum Diagnostics® (6 mL, China) sin anticoagulante. Luego de la coagulación espontánea a temperatura ambiente, se procedió a centrifugar (IEC Centrifuges®, Modelo Clinical, EUA) las muestras de sangre a 755 x g durante 15 min, para extraer el suero sanguíneo, el cual fue trasladado refrigerado hasta el laboratorio de Investigación en Fisiología y Sanidad Animal (LIFSA) de la Universidad Nacional Experimental del Táchira (UNET) para realizar las determinaciones de glucosa y urea. Las concentraciones de los metabolitos fueron determinadas con kits comerciales: Glicemia Enzimática (Wiener lab®, Argentina) para glucosa y Uremia (Wiener lab®, Argentina) para urea. Las lecturas fueron tomadas en un espectrofotómetro (OMEGA IV®, EUA) de filtros con lámpara de tungsteno y su absorbancia se midió a una longitud de onda de 505 y 545 nm para glucosa y urea, respectivamente.

Análisis estadístico

La tasa de desaparición de MO y PC de los suplementos se calculó de acuerdo a la ecuación propuesta por Ørskov y col. [44]: $P = a + b(1 - e^{-ct})$, donde a representa la desaparición de la MO y PC a tiempo cero; b la fracción potencialmente degradable y c la tasa fraccional de degradación. Las constantes a, b y c, fueron determinadas por regresión no lineal con el programa Neway Excel® Versión 6 [13].

La degradación de la MO del forraje y PC de los suplementos fue ajustada por regresión no lineal con el programa Neway Excel® Versión 6 [13], y los porcentajes de degradación de cada tiempo fueron analizados por ANAVAR, bajo un diseño completamente al azar y en caso de diferencias se usó la prueba de Tukey [56].

Las variables pH, N-NH₃, ácidos: acético, propiónico y butírico (0; 3; 9 y 12 h); constantes de degradación ruminal de los suplementos, glucosa y urea en suero sanguíneo, fueron analizadas por ANAVAR, bajo un diseño completamente al azar y en caso de diferencias se usó la prueba de Tukey [56]. La concentración de ácido butírico a las 6 h y la constante c en la degradación de proteína, por no cumplir el supuesto de normalidad fueron transformadas a Logaritmo Neperiano y analizadas por ANAVAR bajo un diseño completamente al azar.

Se estableció correlación (n = 40) entre el nitrógeno amoniacal en líquido ruminal y la urea en suero sanguíneo a través de una matriz de correlación de Pearson [48].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis químico y digestibilidad *in vitro* de las principales materias primas de los suplementos

El contenido de PC de 87,7% en la HPH (TABLA III) es similar al valor reportado por la literatura [19, 58, 64]. Igualmente se encontró una concentración de 52,2% en la HS [19, 32], y su solubilidad en KOH (74,7%) fue superior a 70%, valores inferiores indican un sobreprocesamiento de esta materia prima [6]. La solubilidad de la PC de la HPH en KOH fue más baja que la observada en la HS (27 vs. 74,7%). La PC de la HM (grano y mazorca molidos) fue ligeramente alta respecto a 8,6% [38].

La MS y MO fueron similares entre las materias primas, mientras que la FDN fue mayor en la HM (27,9%) respecto a las otras dos materias primas, y superior al valor reportado (21,5%) por NRC [38]. Los valores de FDN de la HS y HPH son similares a los reportados por la literatura [9, 19, 34].

TABLA III
ANÁLISIS QUÍMICO Y DIGESTIBILIDAD *in vitro* DE LAS MATERIAS PRIMAS PRINCIPALES DE LOS SUPLEMENTOS EXPERIMENTALES

Variable (%)	Materia prima		
	Harina de maíz	Harina de pluma hidrolizada	Harina de soya
MS	90,6	92,8	90,4
PC (N x 6,25)	10,9	87,7	52,2
Solubilidad de PC ¹	-	27,0	74,7
MO	93,3	96,7	94,3
FDN	27,9	18,8	18,5
DIVMS ²	86,4	38,7	80,8
DIVMO ³	89,1	47,5	83,2
DIVFDN ⁴	75,6	41,5	79,3
DVIVMS ⁵	93,2	89,0	96,2

¹En KOH al 0,2%. ²DIVMS: digestibilidad *in vitro* de la materia seca. ³DIVMO: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica. ⁴DIVFDN: digestibilidad *in vitro* de la fibra detergente neutra. ⁵DVIVMS: digestibilidad verdadera *in vitro* de la materia seca.

La DIVMS, DIVMO y DIVFDN, fueron más bajas en la HPH con valores de 38,7; 47,5 y 41,8%, respectivamente; sin embargo, la DIVMS de las tres materias primas fue similar, con valores de 93,2; 89,0 y 96,2%, para la HM, HPH y HS, respectivamente.

pH y N-NH₃ en líquido ruminal

En los cuatro tratamientos (TABLA IV) el pH se mantuvo en un rango de 6,48 a 7,09; cercano al límite superior (5,5 a 7) considerado como normal por NRC [39], lo cual puede ser debido al consumo de heno como dieta basal durante el experimento, ya que alimentos con poco contenido de humedad aumentan el pH ruminal, debido a la mayor secreción de saliva [8].

TABLA IV
pH Y CONCENTRACIÓN DE NITRÓGENO AMONIAICAL (N-NH₃) DURANTE LAS PRIMERAS 12 H DEL CONSUMO DE LOS SUPLEMENTOS

Variable	Tratamientos				EE
	F	HM	HPH	HS	
pH					
0h	7,08	7,05	6,99	6,85	0,03
3h	7,09 ^c	6,98 ^{cd}	6,56 ^e	6,72 ^{de}	0,03
6h	7,06 ^f	6,88 ^{fg}	6,48 ^g	6,65 ^{fg}	0,06
9h	7,09	6,82	6,74	6,83	0,08
12h	6,97	6,73	6,88	6,89	0,08
N-NH₃ (mg·L⁻¹)					
0h	20,1 ^b	34,7 ^b	38,7 ^{ab}	85,2 ^a	2,71
3h	22,8 ^e	190,3 ^d	190,5 ^d	239,4 ^c	4,07
6h	13,7 ^d	106,4 ^{cd}	92,4 ^{cd}	144,2 ^c	10,6
9h	11,7 ^g	33,0 ^{fg}	60,7 ^{fg}	83,8 ^f	7,37
12h	17,0	32,1	41,9	61,9	6,91

^{a, b} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias (P<0,01). EE: Error estándar de la media. ^{c, d, e} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias (P<0,05). ^{f, g} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias (P<0,1).

El pH de líquido ruminal no presentó diferencias entre tratamientos (P>0,05) a las 0 h (antes del consumo de suplemento) con un promedio general de 6,99 ± 0,03. Posteriormente disminuyó, observándose diferencias a las 3 h (P<0,05) y 6 h (P<0,1) después del consumo del suplemento, siendo más bajo para HPH, con valores de 6,56 y 6,48, respectivamente, mientras que F mostró los más altos valores para esas mismas h con valores de 7,09 y 7,06, respectivamente. Los valores de pH a las 3 y 6 h en los animales suplementados fueron superiores a 6,0; valor por debajo del cual hay una disminución de las bacterias celulolíticas, disminuyendo la digestión de la fibra [30]. La disminución de pH, entre las 3 y 6 h en los animales suplementados es debido a la cantidad de carbohidratos fermentables de los suplementos [8, 45]. A las 9 y 12 h posteriores al consumo el pH no mostró diferencias entre tratamientos (P>0,05) con promedios generales de 6,87 ± 0,08 y 6,87 ± 0,08, respectivamente.

Las concentraciones de N-NH₃ en el líquido ruminal (TABLA IV) antes del consumo de suplemento (0 h) fueron mayores (P<0,01) en los animales alimentados con HS (85,2 mg·L⁻¹) y más bajas para HM (34,7 mg·L⁻¹) y F (20,1 mg·L⁻¹). La superioridad de HS puede ser debida al mayor reciclaje de urea, proveniente de la desaminación de los aminoácidos absorbidos [47]. Por otra parte, a las 3 h de consumido el suplemento, la mayor (P<0,05) concentración de N-NH₃ se observó en HS con valores de 239,4 mg·L⁻¹, seguida por HPH y HM con concentraciones de 190,5 y 190,3 mg·L⁻¹, respectivamente, y más bajas para F (22,8 mg·L⁻¹). Si bien la superioridad en los valores de N-NH₃ a las 3 h de HS puede ser debido a la mayor degradación ruminal del N de la harina de soya [32, 46], también pueden ser la resultante de los valores aditivos de las concentraciones pre y post-suministro del suplemento, como lo señalan Godoy y col. [23].

Los valores más altos de N-NH₃ se mantienen a las 6 h (P<0,05) y 9 h (P<0,1) posteriores al consumo del suplemento, para HS sobre HPH y HM, mostrando los valores más bajos para F. Sin embargo a las 12 h todos los tratamientos mostraron similar comportamiento (P>0,05). Las concentraciones de N-NH₃ en los animales suplementados, durante las 12 h de evaluación nunca fueron inferiores al rango de 20-50 mg·L⁻¹ sugeridos por Satter y Slyter [51] como mínimos para un adecuado crecimiento bacteriano en el rumen. Sin embargo, las concentraciones de N-NH₃ de F fueron inferiores al valor crítico, pudiendo haber limitación en el crecimiento de la masa bacteriana del rumen. Por otra parte, luego de 3 h de suministrado el suplemento, HS presentó concentraciones superiores a 235 mg N-NH₃·L⁻¹, punto en el cual la degradación de MO de la dieta puede ser máxima [35].

Los resultados coinciden con Thomas y col. [59], quienes observaron mayor concentración de N-NH₃ en ovinos (*Ovis aries*) cuando usaron un suplemento con 76,4% de harina de soya, al compararlo con tres suplementos donde sustituían 33; 66 y 100% de harina de soya por harina de plumas, señalando que la baja concentración de N-NH₃ en los suplementos donde se sustituía la soya, se debía a la baja degradación ruminal de la PC de la harina de plumas. Thomas y Beeson [58] también observaron mayor concentración de N-NH₃ en animales que consumían un suplemento que contenía harina de soya, respecto a los que consumían el suplemento que contenía harina de plumas. Las diferencias las observaron a 1; 2 y 4 h posteriores al consumo de suplemento, siendo similares las concentraciones a las 6 h post-consumo.

Ácidos grasos volátiles en líquido ruminal

Las concentraciones de ácido acético y propiónico (TABLA V) antes del consumo del suplemento fueron más elevadas (P<0,05) en los animales que recibían HS (53,7 y 28,4 μmol·mL⁻¹, respectivamente) y HPH (46,7 y 24,3 μmol·mL⁻¹, respectivamente), y más bajas para F y HM. En los animales suplementados, de forma general, se observa un aumento de las concentraciones de ácido acético y pro-

TABLA V
CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES
EN LÍQUIDO RUMINAL, EN BOVINOS SUPLEMENTADOS
CON DIFERENTES FUENTES DE PROTEÍNA

Variable	Tratamientos				EE
	F	HM	HPH	HS	
Ácido Acético ($\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$)					
0h	28,8 ^b	32,1 ^b	46,7 ^a	53,7 ^a	1,64
3h	26,30 ^b	41,0 ^{ab}	52,9 ^a	52,9 ^a	2,75
6h	38,8 ^b	33,8 ^b	52,1 ^a	52,1 ^a	1,66
9h	46,3	44,3	42,5	55,0	2,30
12h	47,5	53,3	45,8	55,8	4,14
Ácido propiónico ($\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$)					
0h	14,2 ^b	11,5 ^b	24,3 ^a	28,4 ^a	1,99
3h	12,8 ^b	22,8 ^{ab}	24,2 ^a	17,9 ^{ab}	0,93
6h	21,3 ^{cd}	16,1 ^d	26,0 ^{cd}	27,4 ^c	1,11
9h	20,3	23,7	27,4	23,0	1,27
12h	19,6	25,0	26,0	20,6	1,42
Ácido butírico ($\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$)					
0h	16,8	11,4	17,0	11,9	2,30
3h	13,1	17,3	18,3	15,5	1,82
6h	18,2	16,6	15,3	14,2	-
9h	19,9	16,8	23,2	15,9	1,19
12h	22,7	17,6	18,2	17,9	3,09

^{a, b} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias ($P < 0,05$). EE: Error estándar de la media. ^{c, d} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias ($P < 0,1$).

piónico a las 3 h post-consumo, con valores superiores de ácido acético en HPH y HS, mientras que de ácido propiónico solo en HPH. A las 6 h post consumo se mantuvo la misma tendencia de superioridad de HS y HPH ($P < 0,05$), respecto al ácido acético, y superioridad de HS en las concentraciones de ácido propiónico ($P < 0,1$). Sin embargo, a las 9 y 12 h no se observaron diferencias entre tratamientos con valores de $47,0 \pm 2,30$ y $23,6 \pm 1,27 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ y $50,6 \pm 4,14$ y $22,8 \pm 1,42 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$, de ácido acético y propiónico, respectivamente, para el mismo orden de horas.

Las concentraciones de ácido butírico (TABLA V) no fueron afectadas por los suplementos en ninguno de los tiempos de evaluación con promedio de $14,3 \pm 2,30$; $16,1 \pm 1,82$; $16,4$; $18,9 \pm 1,19$ y $19,1 \pm 3,09 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente, para las 0; 3; 6; 9 y 12 h de consumido el suplemento.

Daugherty y Church [17] observaron que la producción promedio de AGV totales, en 8 h de evaluación fue similar entre los animales suplementados con harina de soya, al compararlo con animales que consumían harina de pluma + urea, señalando que cuando se adiciona urea a un suplemento que contiene harina de pluma, se estimula la actividad microbiana del rumen a un nivel similar al que produce una fuente proteica de alta calidad como la harina de soya.

Degradación de MO del forraje

La degradación de la MO del forraje (TABLA VI) mostró diferencias entre tratamientos ($P < 0,05$) a partir de las 3 h de incubación. El mayor porcentaje de degradación fue observado en animales suplementados con HS y HPH sobre HM y F hasta las 72 h, lo cual indica que la suplementación proteica con un kg de suplemento de 42% de PC (HS y HPH) puede mejorar la degradabilidad del forraje de pobre calidad, no así con la suplementación con 20,7% de PC (HM) la cual tuvo un comportamiento igual al tratamiento no suplementado (F). Al respecto, Preston y Leng [47] señalaron que la suplementación con nitrógeno, cuando este es limitante, puede mejorar la degradabilidad del forraje y aumentar el consumo del mismo, debido a mejoras en el ambiente ruminal. En el presente experimento, si bien la concentración de N-NH₃ entre HM y HPH fue similar, la mayor cantidad de ácido acético y propiónico se presentó en HPH y HS.

Los resultados coinciden con los de Godoy y Chicco [20], quienes reportaron mayor degradación de MO de forraje de pobre calidad (2,7% PC y 77,2% FDN) a las 72 h de incubación, cuando se suplementa con 2 kg de un concentrado de 33,9% de PC, constituido principalmente por urea y harina de algodón. Obispo y col. [41] no observaron diferencias en la degradación de MS del forraje a las 72 h cuando suplementaron con una torta de oleaginosa (algodón) y una harina de origen animal (pesca) con valores de 50,8 y 53,3%, respectivamente.

TABLA VI
DEGRADACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA DEL HENO DE *U. humidicola* EN ANIMALES
SUPLEMENTADOS CON DIFERENTES FUENTES DE PROTEÍNA

Tratamiento	Tiempo (h)							
	0	3	6	9	12	24	48	72
F (%)	4,68	7,53 ^b	10,2 ^b	12,6 ^b	14,9 ^b	22,6 ^b	33,0 ^b	39,2 ^b
HM (%)	3,90	6,94 ^b	9,76 ^b	12,4 ^b	14,8 ^b	23,0 ^b	33,6 ^b	39,6 ^b
HPH (%)	5,23	9,36 ^a	12,6 ^a	15,6 ^a	18,3 ^a	27,4 ^a	38,8 ^a	44,8 ^a
HS (%)	5,87	9,10 ^a	12,6 ^a	15,8 ^a	18,6 ^a	27,6 ^a	37,6 ^a	42,0 ^a
EE	0,49	0,37	0,45	0,59	0,73	1,04	1,00	1,20

^{a, b} Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas ($P < 0,05$). EE: Error estándar de la media.

La similitud en el porcentaje de degradación de MO del forraje en HPH y HS, coinciden con los datos de Thomas y col. [59] quienes no observaron diferencias en la degradación ruminal de la FDN de la paja de cebada (*Hordeum vulgare*) cuando suplementaron ovinos con harina de soya y sustitución de ésta por harina de pluma, señalando que la igualdad en degradación de FDN se debía a un aporte suficiente de N-NH₃ por parte de los suplementos para una adecuada digestión microbiana de la FDN.

En el presente experimento, las concentraciones de N-NH₃ en animales suplementados con HS fueron más elevadas que las de los suplementados con HPH y HM, siendo estas últimas similares entre sí, mientras que la degradación de MO del forraje fue mayor en HS y HPH. Al respecto, Daugherty y Church [17] observaron que cuando se adiciona urea a un suplemento que contiene harina de pluma, permite una actividad microbiana en el rumen comparable a la producida por la harina de soya, mejorando la digestión de la MS, siendo ésta la posible explicación a la similar degradación de MO del forraje en HS y HPH en el presente experimento, ya que HPH contiene 2,5% de urea. Adicionalmente, Ammerman y col. [3] no observaron mejora en la digestibilidad de la MO en ovinos suplementados con harina de soya, cuando a ésta se le adicionó urea o biuret.

Degradación de MO de los suplementos

La solubilidad de la MO de los suplementos a tiempo cero mostró diferencias ($P < 0,05$) siendo mayor para HS y más baja para HPH (TABLA VII). Sin embargo, la fracción potencialmente degradable (b), degradabilidad potencial (P) y la tasa fraccional de degradación (c) no mostraron diferencias entre tratamientos ($P > 0,05$). La fracción b y c de HPH se esperaba que fuese inferior ya que Vergara-López y col. [64] estimaron para la harina de pluma una degradabilidad de MO a las 72 h y tasa fraccional de degradación de 31,5% y 0,012·%·h⁻¹, respectivamente.

TABLA VII
CONSTANTES DE DEGRADACIÓN RUMINAL
DE LA MATERIA ORGÁNICA (MO) Y PC DE LOS
SUPLEMENTOS PROTEICOS

Componente	Constante	Tratamiento			EE
		HM	HPH	HS	
MO del suplemento	a (%)	26,9 ^{ab}	22,1 ^b	29,5 ^a	0,56
	b (%)	55,1	52,8	56,2	3,01
	c (%·h ⁻¹)	0,112	0,080	0,087	0,02
	P (%)	82,0	74,9	85,7	3,29
PC del suplemento	a (%)	60,1 ^a	37,5 ^b	40,9 ^b	0,68
	b (%)	27,0 ^b	27,1 ^b	45,8 ^a	3,17
	c (%·h ⁻¹)	0,212	0,058	0,079	-
	P (%)	87,1 ^a	64,6 ^b	86,7 ^a	3,40

a: Materia orgánica o proteína cruda desaparecida a tiempo cero. Fracción soluble. b: Fracción insoluble pero potencialmente degradable. c: tasa fraccional de degradación. P: degradabilidad potencial (a+b). EE: Error estándar de la media. ^{a, b} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias estadísticas ($P < 0,05$).

La degradación de MO de los suplementos, expresada como porcentaje de la MO inicial, no presentó diferencias entre tratamientos ($P > 0,05$) desde las 3 hasta las 72 h, con valores a las 72 h de 74,6; 81,8 y 82,9% para HPH, HM y HS, respectivamente.

Degradación de proteína cruda de los suplementos

Las constantes de degradación ruminal de la PC mostraron variaciones entre los suplementos (TABLA VII). La PC soluble a tiempo cero (a) fue mayor ($P < 0,05$) en HM respecto a HPH y HS, con valores de 60,1; 37,5 y 40,9%, mientras que la fracción insoluble pero potencialmente degradable (b) fue mayor ($P < 0,05$) en HS (46,9%), respecto a HPH (27,1%) y HM (27,0%). La degradabilidad potencial (P) fue mayor ($P < 0,05$) para HM y HS, y más baja para HPH.

La tasa fraccional (c) de degradación de la PC no presentó diferencias entre tratamientos ($P > 0,05$). Tal vez el uso de dos animales por tratamiento sea un factor que limita la detección de diferencias, ante la variación en la velocidad de degradación que presenta cada animal, independientemente del tratamiento.

La degradación de la PC de los suplementos en los diferentes tiempos de incubación (FIG. 1) mostró diferencias entre tratamientos ($P < 0,05$), siendo mayor HM a las 0 y 3 h, respecto a HPH y HS. A las 6; 9 y 12 h, HS mostró valores intermedios entre HM y HPH, mientras que a las 24 h todos los tratamientos fueron diferentes entre sí, con superioridad de HM, seguido por HS y más bajo HPH. A las 48 y 72 h, HM y HS presentaron un porcentaje de degradación de PC similar y fueron superiores a HPH. Waltz y col. [65] también observaron mayor degradación ruminal de PC en el suplemento que contenía harina de soya, respecto al que tenía harina de plumas.

Si bien HM a las 3 h degradó 73,8% (FIG. 1) de la proteína del suplemento (15,3% de PC del 20,7% de PC que contenía inicialmente el suplemento), HPH degradó similarmente 17,9% de PC pero de un 42,7% de PC inicial, lo cual explica su similitud en las concentraciones de N-NH₃ a las 3 h. La mayor degradación de PC en HM las primeras 3 h puede ser debido a la rápida hidrólisis en el rumen de la urea [10, 52, 53] y del sulfato de amonio [54], ambos contenidos en el suplemento en 2,5 y 4%, respectivamente, representando el 12,4% de PC de 20,7% que contenía HM. Por otra parte, HS degradó a las 3 h, 20,9% de PC de un 42,5% de PC inicial, siendo similar a HPH, lo cual confirma la hipótesis sobre las mayores concentraciones de N-NH₃ en HS a las 3 h, siendo producto de los valores aditivos de las mayores concentraciones de N-NH₃ pre-suministro de suplemento (por reciclaje de urea) con las del post-consumo, como lo señalan Godoy y col. [23], ya que a las 0 y 3 h se degradó aproximadamente la misma cantidad de proteína en HPH y HS.

Concentración de glucosa y urea en suero sanguíneo

La concentración de glucosa en suero sanguíneo (TABLA VIII) no fue afectada por el tipo de suplemento ($P > 0,05$)

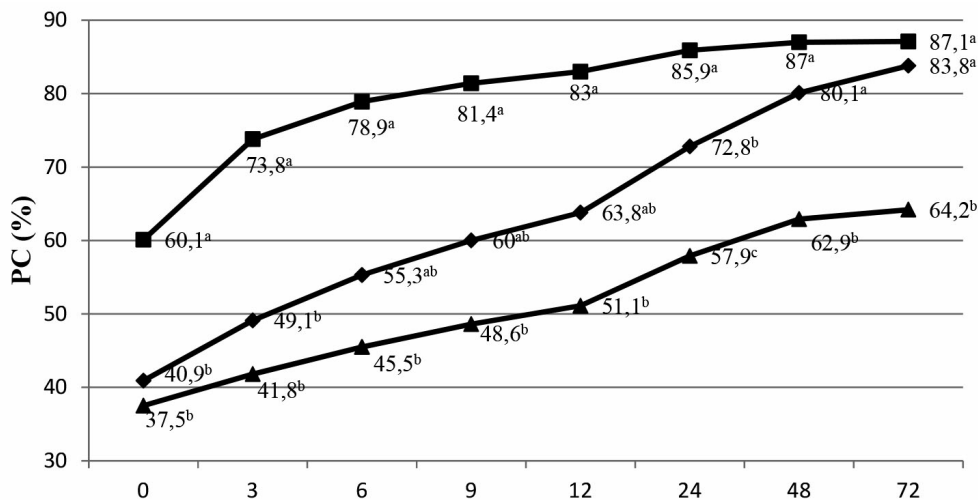


FIGURA 1. DEGRADACIÓN DE PROTEÍNA CRUDA DE LOS SUPLEMENTOS HM (■) HPH (▲) Y HS (◆), EXPRESADA COMO PORCENTAJE DE LA PROTEÍNA INICIAL, EN DIFERENTES TIEMPOS DE INCUBACIÓN.

TABLA VIII
CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA Y UREA EN SUERO SANGUÍNEO A TRAVÉS DEL TIEMPO EN BOVINOS SUPLEMENTADOS CON DIFERENTES FUENTES DE PROTEÍNA

Variable	Tratamientos				EE
	F	HM	HPH	HS	
Glucosa (mg·dL ⁻¹)					
0h	28,6	36,2	40,7	36,6	2,83
3h	34,6	42,9	45,7	42,6	3,04
6h	42,6	47,6	58,7	55,0	3,36
9h	38,0	45,8	53,8	43,1	2,75
12h	55,8	54,9	58,4	61,0	3,17
Urea (mg·dL ⁻¹)					
0h	6,30 ^b	7,00 ^b	14,1 ^{ab}	21,0 ^a	2,65
3h	8,70 ^c	12,7 ^{bc}	22,5 ^{ab}	29,8 ^a	3,58
6h	12,1 ^b	13,8 ^b	26,3 ^{ab}	31,9 ^a	3,53
9h	13,8 ^e	14,4 ^e	27,0 ^{de}	32,8 ^d	3,36
12h	15,6 ^b	11,7 ^b	26,7 ^{ab}	31,3 ^a	3,17

^{a, b, c} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias (P<0,05). EE: Error estándar de la media. ^{d, e} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias (P<0,01).

con un promedio de 46,06 ± 1,70 mg·dL⁻¹. Sin embargo, un 48% de las muestras se ubican por debajo del rango de referencia de 45-73,9 mg·dL⁻¹ [67], indicando un estado hipoglucémico en algunos animales. Las concentraciones variaron durante las 12 h de muestreo, alcanzando un pico a las 6 h, disminuyendo a las 9 h, para volver a aumentar a las 12 h a concentraciones superiores a las observadas a las 6 h. Al respecto, Álvarez [2] señala que la glicemia no está sometida a un fuerte control homeostático y experimenta variaciones diurnas.

La concentración de urea en suero sanguíneo (TABLA VIII) durante las 12 h de evaluación fue afectada (P<0,05)

por los tratamientos, con valores más elevados para HS y más bajos para HM y F. Luego de 3 h de suministrado el suplemento, la urea aumentó en todos los tratamientos, incluso en F, el cual, si bien no era suplementado, luego del muestreo de las 0 h, se le suministraba el heno, lo cual explica como dicho aumento puede ser debido a este consumo. Rodríguez y col. [50] observaron valores más elevados de urea 2 h después del consumo al compararlos con los valores obtenidos 2 h antes del consumo, mientras que Palmquist y col. [45] observaron aumentos en concentraciones de urea sanguínea 3 h luego del consumo de alimento. El pico de urea en suero sanguíneo en los animales suplementados ocurrió a las 9 h; 6 h más tarde que el pico de N-NH₃ en líquido ruminal, lo cual coincide con Lewis [33] quien observó que la urea en sangre sigue los aumentos y disminuciones del N-NH₃ con un periodo de latencia de 4 a 6 h.

Tanto los animales suplementados con HS como con HPH presentaron concentraciones de urea en suero sanguíneo dentro del rango considerado normal (15-42 mg·dL⁻¹) según Wittwer [67], no así F y HM lo que indica un aporte deficitario de proteína en la dieta [66].

Los animales suplementados con HM presentaron concentraciones de urea en suero sanguíneo similares a las de los no suplementados (F) a las 0; 6; 9 y 12 h, lo cual puede ser debido a que la urea sintetizada en el hígado por efecto de la suplementación proteica pudo retornar al rumen vía saliva y por difusión de la sangre al rumen [31], ya que este reciclaje constituye un aspecto importante en la utilización del nitrógeno proveniente de la dieta [10].

La mayor concentración de urea en HS puede ser debido a la mayor absorción de N-NH₃ ruminal [28, 49], lo cual indica que la cantidad de N-NH₃ disponible en rumen no es utilizado totalmente por la masa microbiana, y parte de la fracción absorbida es convertida en urea en el hígado [7, 26, 61], lo que lleva a aumentar el gasto energético del animal al tener

que convertir este nitrógeno en urea [43]. Los resultados coinciden los obtenidos por Thomas y Beeson [58] quienes observaron mayor concentración de urea en plasma en animales suplementados con harina de soya, respecto a los suplementados con harina de pluma, a las 2; 4 y 6 h post-consumo. Anderson y col. [4] observaron niveles de urea en sangre mayores en vacas que consumían proteína degradable respecto a las que no recibían la suplementación.

La concentración de urea en suero se correlacionó con el nitrógeno amoniacal del líquido ruminal ($r = 0,46$; $P < 0,005$). Estos resultados son inferiores al coeficiente de correlación significativo reportado por la literatura mundial de 0,84 a 0,97 [42] y 0,93 [1]. Esta inferioridad puede ser debido a que la concentración de urea en suero es afectada también por el nivel de energía de la dieta [25].

CONCLUSIONES

La suplementación con harina de soya produjo los niveles de nitrógeno amoniacal más altos en el líquido ruminal e indujo a una mayor producción de urea en suero sanguíneo. La suplementación con harina de soya o con harina de pluma hidrolizada aumentaron la producción de ácido acético y propiónico, así como la degradación ruminal de la MO del F. La MO de los suplementos estudiados se degradó de igual forma en el rumen, mientras que la PC del suplemento que contenía harina de plumas hidrolizada fue menos degradable a nivel ruminal.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Decanato de Investigación de la Universidad Nacional Experimental del Táchira (UNET) por el financiamiento parcial de este proyecto (Código: 02-005-07), al Personal de la Unidad Académica "La Morusca" y Personal del laboratorio de Nutrición del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) de Maracay, estado Aragua.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALFARO, M.A. Utilización del nitrógeno no proteico y proteína protegida en la alimentación de vacas lecheras. Postgrado en Producción Animal. Facultades de Agronomía y Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela. Tesis de Maestría. 78 pp. 1986.
- [2] ÁLVAREZ, J.L. Glucosa. En: **Bioquímica Nutricional y Metabólica del Bovino en el Trópico**. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín. Colombia. Pp 52-54. 2001.
- [3] AMMERMAN, C.B.; VERDE, G.J.; MOORE, J.E.; BURNS, W.C.; CHICCO, C.F. Biuret, urea and natural proteins as nitrogen supplements for low quality roughage for sheep. **J. Anim. Sci.** 35: 121-127. 1972.
- [4] ANDERSON, L.P.; PATERSON, J.A.; ANSOTEGUI, R.P.; CECAVA, M.; SCHMUTZ, W. The effects of degradable and undegradable intake protein on the performance of lactating first-calf heifers. **J. Anim. Sci.** 79: 2224-2232. 2001.
- [5] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Metals in plants y Animal feed. Official Methods of Analysis. 15th Ed. Arlington, VA. EUA. Pp 42; 69-90. 1990.
- [6] ARABA, M.; DALE, N.M. Evaluation of protein solubility as an indicator of overprocessing soybean meal. **Poult. Sci.** 69: 76-83. 1990.
- [7] BACH, A.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M.D. Nitrogen metabolism in the rumen. **J. Dairy Sci.** 88 (E. Suppl.): E9-E21. 2005.
- [8] BARNETT, A.J.G.; REID, R.L. Specific gravity, pH, redox potencial and motility. In: **Reactions in the rumen**. Edward Arnold Publisher. London. England. Pp 12-14. 1961.
- [9] BOCHI-BRUM, O.; CARRO, M.D.; VALDÉS, C.; GONZÁLEZ, J.S.; LÓPEZ, S. Digestibilidad *in vitro* de forrajes y concentrados: Efecto de la ración de los animales donantes de líquido ruminal. **Arch. Zoot.** 48: 51-61. 1999.
- [10] CHALUPA, W. Problems in feeding urea to ruminants. **J. Anim. Sci.** 27: 207-219. 1968.
- [11] CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clin. Chem.** 8: 130-132. 1962.
- [12] CHEN, P.S.; TORIBARA, T.Y.; WARNER, H. Microdetermination of phosphorus. **Anal. Chem.** 28: 1756-1758. 1956.
- [13] CHEN, X.B. Neway Excel: An Excel Application Program for Processing Feed Degradability Data. 1997. International Feed Resources Unit. Rowett Research Institute. Aberdeen. Reino Unido. En línea: <http://www.macauley.ac.uk/IFRU/software/Test.xls>. 17-02-2011.
- [14] CHICCO, C.F.; GODOY, S.; OBISPO, N. Corrección de los factores nutricionales que limitan la producción de bovinos a pastoreo. **XIV Cursillo sobre Bovinos de Carne**. Plasse, D.; Peña de B. N.; Romero, R. (Eds.). Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay. 10/15-16. Venezuela. Pp 89-116. 1998.
- [15] CHICCO, C.F.; SHULTZ, T.A.; SHULTZ, E.; CARNEVALI, A.A.; AMMERMAN, C.B. Molasses-urea for restricted forage fed steers in the tropics. **J. Anim. Sci.** 35: 859-864. 1972.
- [16] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). Determinación de solubilidad de la proteína en hidróxido de potasio. Alimentos para animales. 3034-93. Fondorama. Caracas, Venezuela. 2 pp. 1993.

- [17] DAUGHERTY, D.A.; CHURCH, D.C. *In vivo* and *in vitro* evaluation of feather and hair meals in combination with urea for ruminants. **J. Anim. Sci.** 54: 345-352. 1982.
- [18] ERWIN, E.S.; MARCO, G.J.; EMERY, E.M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **J. Dairy Sci.** 44: 1768-1771. 1961.
- [19] FONTANELI, R.S.; PRATES, Ê.R.; RAMOS, P.; BARCELLOS, J.O. Suplementação da silagem de sorgo com diferentes fontes de proteína para bovinos de corte. **Rev. Bras. Zoot.** 31: 183-191. 2002.
- [20] GODOY, S.; CHICCO, C.F. Suplementación con urea y niveles crecientes de harina de algodón en bovinos alimentados con forraje de pobre calidad. **Zoot. Trop.** 9: 105-129. 1991.
- [21] GODOY, S.; CHICCO, C.F. Suplementación de bovinos alimentados con forraje de pobre calidad con fuentes de proteínas de diferentes tasas de degradación ruminal. **Zoot. Trop.** 9: 131-144. 1991.
- [22] GODOY, S.; CHICCO, C.F.; OBISPO, N.E. Suplementación de bovinos en crecimiento y engorde con concentrados nitrogenados con y sin tratamiento con formaldehído. I. Ganancia de peso y digestibilidad. **Zoot. Trop.** 11: 211-240. 1993.
- [23] GODOY, S.; CHICCO, C.F.; OBISPO, N.E. Suplementación de bovinos en crecimiento y engorde con concentrados nitrogenados con y sin tratamiento con formaldehído. II. Dinámica y fermentación ruminal. **Zoot. Trop.** 12: 55-75. 1994.
- [24] GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. Forage fiber analysis (*apparatus, reagents, procedures and some applications*). In: **Agricultural Handbook**. Washington, D.C. Agricultural Research Service, USDA. Number 379. Pp 1-20. 1970.
- [25] HAALAND, G.L.; MATSUSHIMA, J.K.; NOCKELS, C.F.; JOHNSON, D.E. Bovine hair as an indicator of calorie-protein status. **J. Anim. Sci.** 45: 826-831. 1977.
- [26] HAYASHI, H.; KAWAI, M.; NONAKA, I.; TERADA, F.; KATOH, K.; OBARA, Y. Developmental changes in the kinetics of glucose and urea in Holstein calves. **J. Dairy Sci.** 89: 1654-1661. 2006.
- [27] HESS, B.W.; PARKS, K.K.; KRYS, L.J.; JUDKIN, M.B.; MCCRACKEN, B.A.; HANKS, D.R. Supplemental protein for beef cattle grazing dormant intermediate wheatgrass pasture: Effects on nutrient quality, forage intake, digesta kinetics, grazing behavior, ruminal fermentation, and digestion. **J. Anim. Sci.** 72: 2113-2123. 1994.
- [28] HESS, B.W.; SCHOLLJEGERDES, E.J.; COLEMAN, S.A.; WILLIAMS, J.E. Supplemental protein plus ruminally protected methionine and lysine for primiparous beef cattle consuming annual rye hay. **J. Anim. Sci.** 76: 1767-1777. 1998.
- [29] HOLMABACK-PETERSEN, R.; TOBIA, C.; ROSENDO, O.; DIAZ, M.; SALDIVIA, C.; CHACÓN, A.; VELÁSQUEZ, J. Experiencia con cánulas ruminales de plástico para bovinos. **Gaceta Cien. Vet.** 12: 67-71. 2007.
- [30] HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **J. Dairy Sci.** 69: 2755-2766. 1986.
- [31] HOUPPT, T.R. Utilization of blood urea in ruminants. **Am. J. Physiol.** 197: 115-120. 1959.
- [32] LEÓN, S. DE; CHICCO, C.F. Degradación ruminal *in situ* de diferentes fuentes de proteína. **Zoot. Trop.** 9: 3-24. 1991.
- [33] LEWIS, D. Blood-urea concentration in relation to protein utilization in the ruminant. **J. Agric. Sci.** 48: 438-446. 1957.
- [34] MACGREGOR, C.A. Feathers, poultry, hydrolyzed. In: **Directory of feeds and feed ingredients**. 3^{ra} Ed. W.D. Hoard & Sons Company. Wisconsin, EUA. 37 pp. 2000.
- [35] MEHREZ; A.Z.; ØRSKOV, E.R.; MCDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **Br. J. Nutr.** 38: 443-447. 1977.
- [36] MORENO, C.; MORA, R.; AMAYA, F.; OLIVARES, R. Concentración de nitrógeno ureico en leche (NUL) bovina durante la lactancia en una finca al norte del estado Táchira, Venezuela. **Rev. Científ. UNET.** 18: 1-7. 2006.
- [37] NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Appendix tables. Nutrient requirements of domestic animals. Nutrient requirements of beef cattle. 7^{ma} Ed. National Academy Press. Washington, EUA. Pp 191-218. 2000.
- [38] NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient composition of feeds. Nutrient requirements of domestic animals. Nutrient requirements of dairy cattle 7^{ma} Ed. National Academy Press. Washington, EUA. Pp 281-314. 2001.
- [39] NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Degradation of dietary crude protein in the reticulo-rumen. Ruminant nitrogen usage. National Academy Press. Washington, EUA. Pp 28-36. 1985.
- [40] NOLAN, C.J.; BULL, R.C.; SASSER, R.G.; RUDER, C.A.; PANLASIGUI, P.M.; SCHOENEMAN, H.M.; REEVES, J.J. Postpartum reproduction in protein restricted beef cows: Effect on the hypothalamic-pituitary-ovarian axis. **J. Anim. Sci.** 66: 3208-3217. 1988.
- [41] OBISPO, N.E.; PARES, P.; HIDALGO, C.; PALMA, J.; GODOY, S. Consumo de forraje y ganancia diaria de peso en bovinos de carne en crecimiento suplementados con fuentes proteicas. **Zoot. Trop.** 19: 423-442. 2001.
- [42] OGUNDOLA, F.I. Ruminal ammonia and plasma urea relationship in young growing calves. **E. Afr. Agr. For. J.** 46: 23-26. 1984.

- [43] OLDHAM, J.D. Protein-Energy interrelationships in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 67: 1090-1114. 1984.
- [44] ØRSKOV, E.R.; HOWELL, F.D.; MOULD, F. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. **Trop. Anim. Prod.** 5: 195-213. 1980.
- [45] PALMQUIST, D.L.; WEISBJERG, M.R.; HVELPLUND, T. Ruminant, intestinal, and total digestibilities of nutrients in cows fed diets high in fat and undegradable protein. **J. Dairy Sci.** 76: 1353-1364. 1993.
- [46] PARRA, A.; COMBELLAS, J.; DIXON, R. Rumen degradability of some tropical stuffs. **Trop. Anim. Prod.** 9: 196-199. 1984.
- [47] PRESTON, T.R.; LENG, R.A. Adecuando los sistemas de producción pecuaria a los recursos disponibles: aspectos básicos y aplicados del nuevo enfoque sobre la nutrición de rumiantes en el trópico. Consultorías para el Desarrollo Rural Integrado en el Trópico (CONDRIT) Ltda. Cali. Colombia. 312 pp. 1989.
- [48] QUINN, G.P.; KEOUGH, M.J. Correlation analysis. In: **Experimental Design and Data Analysis for Biologists**. Cambridge University Press. United Kingdom. Pp 72-77. 2002.
- [49] RODRÍGUEZ, L.A.; STALLINGS, C.C.; HERBEIN, J.H.; MCGILLIARD, M.L. Diurnal variation in milk and plasma urea nitrogen in Holstein and Jersey cows in response to degradable dietary protein and added fat. **J. Dairy Sci.** 80: 3368-3376. 1997.
- [50] RODRÍGUEZ, L.A.; STALLINGS, C.C.; HERBEIN, J.H.; MCGILLIARD, M.L. Effect of degradability of dietary protein and fat on ruminal, blood, and milk components of Jersey and Holstein cows. **J. Dairy Sci.** 80: 353-363. 1997.
- [51] SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. **Br. J. Nutr.** 32: 199-208. 1974.
- [52] SHULTZ, E.; CHICCO, C.F.; CAÑAS, L.E.; SHULTZ, T.A. Urea, biuret y su combinación como suplementos de nitrógeno para ovinos. **Agron. Trop.** 24: 493-504. 1974.
- [53] SHULTZ, E.; CHICCO, C.F.; SHULTZ, T.A.; GARBATI, S.T. Urea, biuret y su combinación como suplementos de nitrógeno para bovinos. **Agron. Trop.** 24: 149-158. 1974.
- [54] SHULTZ, E.; CHICCO, C.F.; SHULTZ, T.A.; MOYA, A.; GARMENDIA, J. Combinaciones de urea y sulfato de amonio en suplementos para bovinos alimentados con heno de baja calidad. **Agron. Trop.** 28: 643-654. 1978.
- [55] SHULTZ, E.; SHULTZ, T.A.; CARNEVALI, A.A.; CHICCO, C.F. Suplementación con urea-melaza y pulitura de arroz en bovinos alimentados con pastos de pobre calidad. **Agron. Trop.** 21: 195-204. 1971.
- [56] STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. Comparaciones múltiples. En: **Bioestadística: Principios y Procedimientos**. 2^{da} Ed. McGraw-Hill. México. Pp 166-187. 1988.
- [57] TABATABAI, M.A.; BREMNER, J.M. A simple turbidimetric method of determining total sulfur in plant materials. **Agro. J.** 62: 805-806. 1970.
- [58] THOMAS, V.M.; BEESON, W.M. Feather meal and hair meal as protein sources for steer calves. **J. Anim. Sci.** 45: 819-825. 1977.
- [59] THOMAS, V.M.; CLARK, C.K.; SCHULDT, C.M. Effects of substituting feather meal for soybean meal on ruminal fiber fermentation and lamb and wool growth. **J. Anim. Sci.** 72: 509-514. 1994.
- [60] TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two stage technique for *in vitro* digestion of forage crops. **J. Br. Grassl. Soc.** 18: 104-111. 1963.
- [61] TILLMAN, A.D.; SIDHU, K.S. Nitrogen metabolism in ruminants: Rate of ruminal ammonia production and nitrogen utilization by ruminants. A review. **J. Anim. Sci.** 28: 689-697. 1969.
- [62] VAN SOEST, P.J.; WINE, R.H. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. **J. Assn. Offic. Anal. Chem.** 50: 50-55. 1967.
- [63] VÁSQUEZ, B.J.; BASTIDAS, P. Comportamiento reproductivo de vacas Brahman de primera lactancia suplementadas con proteína no degradable. **Zoot. Trop.** 23: 411-427. 2005.
- [64] VERGARA-LÓPEZ, J.; ARAUJO-FEBRES, O.; LACHMAN, M.; TROCONIS, Y. Degradabilidad ruminal de la harina de plumas en novillos mestizos tropicales. **Rev. Científ. FCV-LUZ**. XII(Suplemento 2): 505-507. 2002.
- [65] WALTZ, D.M.; STERN, M.D.; ILLG, D.J. Effect of ruminal protein degradation of blood meal and feather meal on the intestinal amino acid supply to lactating cows. **J. Dairy Sci.** 72: 1509-1518. 1989.
- [66] WITTWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energía em rebanhos bovinos. In: **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. González, F.H.D.; Barcellos, J.O.; Ospina, H.; Ribeiro, L.A.O. (Eds.). Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brasil. Pp 9-22. 2000.
- [67] WITTWER, F. Marcadores bioquímicos no controle de problemas metabólicos nutricionais em gado de leite. In: **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. González, F.H.D.; Barcellos, J.O.; Ospina, H.; Ribeiro, L.A.O. (Eds.). Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do sul. Porto Alegre, Brasil. Pp 53-62. 2000.