

CAPÍTULO XIX

VALORACIÓN PROTEICA DE ALIMENTOS PARA RUMIANTES

- I. INTRODUCCIÓN
- II. VALORACIÓN NITROGENADA DE ALIMENTOS
- III. DEGRADABILIDAD RUMINAL DEL FORRAJE
- IV. MÉTODOS PARA ESTIMAR LA DEGRADABILIDAD RUMINAL
- V. COMPOSICIÓN NITROGENADA DE LOS FORRAJES
- VI. FACTORES QUE AFECTAN LA DEGRADABILIDAD DE LOS FORRAJES
- VII. CONCLUSIONES
- VIII. LITERATURA CITADA

I. INTRODUCCIÓN

En el mundo, los sistemas de producción con rumiantes basan la alimentación del rebaño fundamentalmente en el uso de pastos y cultivos forrajeros que ocupan una superficie aproximada de 3500×10^6 ha, constituyendo cerca de un 72% del área dedicada a la agricultura y un 27% de la superficie total de la tierra [34]. En la década del 70 se estimaba que los forrajes proporcionaban más del 90% de los requerimientos energéticos del ganado en el mundo [35], pero con la intensificación de las explotaciones, esta contribución ha venido reduciéndose hasta un 50% en vacas lecheras [77]. Sin embargo, los forrajes no han perdido importancia ya que además de contribuir a suplir los requerimientos energéticos de los animales, también proporcionan una cantidad significativa de proteína, de manera que con pastos de buena calidad fácilmente se pueden suministrar además del 50% de energía, alrededor del 60% de las necesidades de proteína para vacas lecheras [72].

En ganadería de doble propósito la dependencia del uso de los pastos y cultivos forrajeros es mucho más acentuada y en ocasiones constituyen hasta 100% del suministro de nutrientes para el ganado. Sin embargo, a pesar de que pastos y forrajes proveen nutrientes a menor costo que los alimentos concentrados, su valor nutritivo es muy variable ya que dependen de numerosos factores tales como la especie de la planta, clima, estado de madurez, etc. Asimismo, en muchos lugares los forrajes son conservados por procesos de henificación, ensilaje o deshidratados artificiales que también suelen modificar sustancialmente las características nutritivas del alimento original.

Dada la importancia y variabilidad de los forrajes es vital que existan métodos seguros que permitan valorar sus características nutricionales teniendo en cuenta también, que en los rumiantes, antes de una digestión gástrica e intestinal, el alimento es retenido en el rumen por períodos prolongados de tiempo y sometido bajo condiciones anaeróbicas a una extensa fermentación microbiana, lo que complica y puede confundir la predicción de la respuesta animal a las dietas.

II. VALORACIÓN NITROGENADA DE ALIMENTOS

A través de los años se ha generado una considerable cantidad de información acerca del valor nutritivo que tienen los pastos en la alimentación de rumiantes, lo que durante años ha servido de base para el racionamiento de estos animales. Sin embargo, avances en el estudio de la digestión en estas especies han señalado la necesidad de desarrollar sistemas alternativos que mejoren la estimación de las necesidades de estos animales y la valoración de los alimentos especialmente en lo relacionado con su aporte proteico. La valoración nitrogenada de los alimentos en términos de proteína aparentemente digestible, ha mostrado limitaciones e inconsistencias en la estimación del aporte proteico de los alimentos y en los requerimientos nitrogenados en rumiantes. Es por ello que en los últimos años, se han desarrollado nuevos sistemas que mejoran sustancialmente la estimación, tanto de las necesidades del animal como del valor nutritivo de los alimentos [14, 43]. Estos sistemas [1, 44, 58, 72], están basados en el concepto de aminoácidos absorbibles en el intestino delgado provenientes de la suma de la proteína microbiana sintetizada en el rumen, la proteína alimenticia que

escapa a la degradación ruminal, el nitrógeno endógeno y sus digestibilidades intestinales. De esa forma, se puede realizar una formulación más precisa teniendo en cuenta las necesidades de los animales y la de microorganismos ruminales.

La utilización de valores de degradabilidad en el racionamiento favorece una mayor precisión al considerar la fracción proteica aprovechable por los microorganismos y la fracción no degradable en el rumen pero si disponible para la digestión enzimática en el intestino. Los resultados combinados de ambos procesos definen la cantidad de aminoácidos que llegan al intestino delgado y dependen marcadamente de las tasas de degradación, del crecimiento microbiano y del tránsito de partículas de alimento y microorganismos.

El nitrógeno microbiano desde un punto de vista cuantitativo, constituye la fracción más importante del nitrógeno que alcanza el intestino (50 al 90%, según la naturaleza de la ración), representando un papel fundamental en el suministro nitrogenado del animal. Aunque normalmente minoritaria, la proteína alimenticia no degradada, puede tener igualmente una gran importancia nutritiva al complementar los aportes de proteína microbiana. Estos aportes son los responsables, a partir de un cierto límite, del nivel de producción alcanzado por el animal, ya que la síntesis de proteína microbiana está limitada por la capacidad de ingestión. Por otro lado, la manipulación de esta fracción, mediante la selección de los alimentos de la ración o bien por la protección de la proteína de estos frente a la degradación ruminal, es el método más eficaz disponible actualmente para incrementar el aporte de aminoácidos al duodeno del animal.

Por consiguiente, una evaluación conveniente del valor proteico de los forrajes requiere técnicas que tengan en cuenta esta dinámica [1,43, 58, 72]. Sin embargo, la aplicación de estos nuevos sistemas tiene algunos inconvenientes como una base de datos relativamente reducida para algunos alimentos o la utilización de valores medios de degradabilidad y digestibilidad intestinal sin considerar los posibles factores que pueden afectar su aporte proteico para rumiantes. Estos hechos resultan particularmente ciertos para la valoración nitrogenada de los pastos tropicales.

III. DEGRADABILIDAD RUMINAL DEL FORRAJE

La degradación de la proteína en el rumen es realizada por un gran número de enzimas sintetizadas mayormente por las bacterias y en menor grado por protozoos y hongos [60]. Las bacterias constituyen al menos la mitad de la biomasa microbiana del rumen y son las responsables de la mayor parte de la degradación proteica, considerándose que del 30 al 50% de sus especies poseen actividad proteolítica, si bien la mayor parte de ellas son también amilolíticas [78]. Los protozoarios y hongos son considerados de menor importancia en actividad proteolítica, aunque existen evidencias de que su ausencia puede causar una disminución significativa en la proteólisis [16].

La degradación de los compuestos nitrogenados del alimento en el rumen es uno de los factores cuantitativos más importantes para la estimación del valor proteico de un alimento ya que los productos de esta degradación como el amoníaco, péptidos, aminoácidos, cadenas carbonadas y energía en forma de ATP son utilizados por los microorganismos ruminales para la síntesis de su biomasa, que junto al nitrógeno endógeno y a la proteína que escapa a la acción enzimática microbiana constituyen el

aporte de aminoácidos para el rumiante [47, 53]. La velocidad y la cantidad total de proteína degradada de un alimento o dieta puede constituirse en un factor limitante en el proceso de aporte de aminoácidos al intestino delgado del huésped y consecuentemente en su productividad. Si la degradabilidad de la proteína de la dieta es baja y/o los requerimientos del huésped son muy elevados, la proteína microbiana puede resultar insuficiente para satisfacer las necesidades de aminoácidos del rumiante. Por otro lado, si ocurre una degradación excesiva en el rumen se puede producir más amonio del que la población microbiana puede utilizar; en tal circunstancia el amonio en exceso se perderá por la vía de absorción en el rumen, conversión a urea en el hígado y excreción por la orina, por lo que en ocasiones la conversión de la proteína del alimento en proteína microbiana puede resultar en un proceso ineficiente.

La utilización en el racionamiento de los valores de degradabilidad de los alimentos posibilita una mayor precisión ya que determina la fracción nitrogenada disponible para la digestión enzimática por el huésped [53, 60, 61]. En términos generales, la cantidad de proteína de los forrajes que no es degradada en el rumen es baja aunque muy variable; en promedio apenas un 25% escapa de la fermentación ruminal y pasa al intestino [53], este valor medio asciende hasta un 27% cuando se incluyen valores obtenidos con forrajes tratados física o químicamente (formaldehído, calor, molido, peletizado) para reducir la degradabilidad de la proteína, por lo que puede afirmarse que a pesar de la variabilidad observada entre y dentro de forrajes, en la gran mayoría de las circunstancias la proteína es rápida y extensamente degradada por los microorganismos del rumen [16, 53].

En forrajes frescos de leguminosas, un alto contenido de proteína unido a una elevada degradabilidad se asocia con pérdidas netas de nitrógeno y energía durante la digestión ruminal [12, 20, 32]. En consecuencia, los requerimientos de los animales con alta producción de leche y/o alto crecimiento no pueden ser completados sin adicionar a la ración alimentos concentrados con elevadas proporciones de proteína "bypass" o incrementar la cantidad de carbohidratos fermentables para promover una mayor producción de proteína microbiana en el rumen [30].

IV. MÉTODOS PARA ESTIMAR LA DEGRADABILIDAD RUMINAL

Un factor básico en la estructura de los nuevos sistemas de valoración proteica de los alimentos lo constituye la degradabilidad de la proteína bruta de los alimentos en el rumen, ya que este parámetro determina tanto la cantidad de proteína alimenticia que pasa inalterada hacia el intestino como las disponibilidades de nitrógeno degradable para el crecimiento de la población microbiana ruminal. Durante los últimos años se han logrado avances en el desarrollo de métodos para su determinación.

1. Métodos in vivo

Estos métodos implican las mediciones del nitrógeno consumido en el alimento (*NC*), el nitrógeno endógeno (*NE*), el no amoniacal (*NNA*) y el nitrógeno microbiano (*NM*). La degradabilidad se expresa como:

$$D = 1 - \left[\frac{NNA - (NM - NE)}{NC} \right]$$

Los procedimientos *in vivo* son muy complejos, laboriosos e imprecisos; requieren una considerable inversión de recursos ya que cada experimento involucra el empleo de varios ruminantes con cánulas en secciones distintas del tracto gastrointestinal y mediciones de la cantidad y composición del flujo de la digesta. Además es necesario diferenciar la proteína según su origen: alimenticio, microbiano o endógeno para lo que es necesario un sistema dual de marcadores que posee un alto coeficiente de variación entre animales [60, 71]. Por otra parte, la idea de que los microorganismos aislados en el rumen son representativos de estos en el duodeno, es de dudosa validez ya que en el duodeno se incluyen organismos adheridos a las partículas del alimento y/o epitelio ruminal. La fracción endógena constituye cerca de 50 a 200g/kg del nitrógeno duodenal pero es difícil de cuantificar por lo que frecuentemente se asume un valor de 150 g/kg. De allí que, las estimaciones de degradabilidad estén sujetas a mediciones imprecisas del flujo del nitrógeno microbiano y del endógeno. Además, están afectadas por aspectos de la dieta tales como el nivel de alimentación, el tamaño y la frecuencia de las comidas [51].

El mayor inconveniente del método consiste en las imprecisiones que implica la determinación del nitrógeno no degradado del alimento [16, 60], ya que los errores en las mediciones del nitrógeno microbiano se trasladan automáticamente a la estima del nitrógeno alimentario residual; como este representa una fracción menor sus coeficientes de variación serán muy superiores. Además, los valores obtenidos deben corregirse sobre la base del nitrógeno de origen endógeno para evitar la sobreestimación de la proteína alimenticia no degradada en el rumen [6]. Otra desventaja, es que estas mediciones solo tienen validez en caso de que el tránsito digestivo sea similar al de las condiciones en que se realizó el ensayo [60]; en caso de alimentos que se suministran como suplementos pueden existir diferencias importantes en el flujo digestivo de acuerdo a la composición de la dieta total.

La degradabilidad de la proteína también puede estimarse por regresión incluyendo en la dieta cantidades crecientes del alimento a evaluar, manteniendo constantes los aportes de energía fermentable para la síntesis microbiana y asumiendo un valor constante del nitrógeno endógeno [71]. La ventaja de este método es que no es necesario determinar la proteína de origen microbiano o endógeno (una de las principales fuentes de error), ya que permanecen constantes. Sin embargo, tiene el inconveniente de ser un método más laborioso debido al hecho de utilizar más dietas.

2. Métodos *in situ*

Un método relativamente simple y de bajo coste; consiste en incubar en el rumen, los diferentes alimentos empleando una bolsa de material poroso (nylon o dacrón) y medir la desaparición de nutrientes en períodos de tiempos crecientes y predeterminados, estimándose de esta manera tanto la cinética de degradación como la extensión de la misma. La degradación que alcanzan las partículas también depende del ritmo con que salgan del rumen, por lo que, la degradabilidad efectiva se calcula a través de la integración de las ecuaciones de degradación y tránsito de partículas en el rumen [60]. Existen factores que afectan las estimaciones de degradabilidad constituyendo importantes fuentes de variación; entre ellos se incluyen la porosidad del tejido de la bolsa, el peso de la muestra y su relación con la superficie de la bolsa,

tamaño de partícula de la muestra, sitio de incubación en el rumen, dieta y frecuencia de alimentación de los animales y grado de adhesión de bacterias a los residuos de alimentos que permanecen dentro de la bolsa [42].

A pesar de ser una técnica adecuada, presenta varias limitaciones, como el asumir que toda la proteína que desaparece de la bolsa ha sido degradada, sin embargo, parte de esta proteína abandona la bolsa porque su tamaño de partícula es pequeño en comparación con el tejido de la bolsa, lo que no asegura que la fermentación haya sido completada [16]. Además, asume que la proteína soluble es completa e instantáneamente degradada en el rumen, no obstante, en algunos casos las tasas de degradación de la fracción soluble pueden ser más lenta que las de la fracción insoluble [48]. Otra limitante del método es consecuencia de la contaminación microbiana asociada a la colonización de las muestras por microorganismos adherentes para su degradación, ya que aún después del lavado una fracción importante de ellos permanece adherida y forman parte de la materia seca y del nitrógeno presente en el residuo. Por otro lado, el alimento no está expuesto a acciones digestivas como la masticación, rumia y paso a través del tubo digestivo aunque este último puede estimarse [60].

A pesar de estas limitaciones, la técnica es utilizada en todos los sistemas de valoración nitrogenada que están actualmente en evaluación y desarrollo debido a que resulta más sencillo, rápido y económico que el método *in vivo*, habiéndose obtenido buenas correlaciones entre la comparación de ambos métodos [71].

3. Métodos de laboratorio

Algunos métodos de laboratorio han sido propuestos para disminuir o evitar la dependencia de animales fistulizados, imprescindibles para la determinación de la degradabilidad por los métodos *in vivo* [60]. Entre los principales se encuentran, la determinación de la solubilidad de las proteínas alimenticias, la producción de amoníaco a partir de la inoculación con fluido ruminal en medios de cultivo "estáticos" o de flujo, tipo "Rusitec". Cuando la técnica es usada sobre una gran variedad de alimentos con diferentes características físicas y químicas se origina un error de predicción muy elevado. No obstante, entre alimentos concentrados semejantes, se ha observado una buena relación entre la degradabilidad y la solubilidad del nitrógeno [12].

La situación con los forrajes es menos favorable y aún no hay métodos aceptados, aunque como en los concentrados, mejora mucho su predicción cuando la técnica es usada dentro de un mismo tipo de forraje o entre forrajes con características semejantes [51]. La técnica de la producción de amoníaco se basa en su medición en un medio de cultivo conteniendo líquido ruminal, en el cual se coloca la muestra a evaluar. La limitante principal del método reside en que el amoníaco producido durante la fermentación permanece en el sistema y es utilizado por los mismos microorganismos que lo producen, es decir, que existe una acumulación de productos finales de fermentación, cosa que no ocurre en el rumen al haber un reciclado de estos productos finales [58]. La degradación de la proteína por enzimas purificadas de hongos y bacterias ha sido ampliamente investigada como un medio para estimar la degradabilidad [16].

Se han utilizado diferentes proteasas con variables resultados cuando se comparan con la técnica "*in sacco*". Las enzimas más promisorias han sido *Streptococcus gri-*

seus, *Streptococcus bovis* y *Bacteroides amylophilus*. Entre estas la preferida es *Streptococcus griseus* que ha sido propuesta en la utilización de este método para el nuevo sistema del PDI francés [9]. El sistema para carbohidratos y proteína (CNCPS) ha desarrollado un submodelo para la estimación de la degradabilidad de la proteína que caracteriza el nitrógeno de los alimentos dividiéndolo en varias fracciones de acuerdo a su solubilidad en diferentes soluciones, bien en forma directa o asociada a la aplicación del fraccionamiento de la pared celular mediante el empleo de detergentes [70]. La espectroscopia de reflectancia del infrarrojo (NIR) cercano es un método rápido, barato, relativamente preciso y ampliamente usado en análisis rutinarios de composición química y digestibilidad de los alimentos para determinación de su valor nutritivo [16]. Esta técnica ha mostrado también potencial para la estimación de la degradabilidad de la materia seca y proteína en el rumen debido a las relaciones significativas entre la reflectancia y las características de degradabilidad ruminal determinadas "in situ" [16]. Sin embargo, su desarrollo depende de la disponibilidad de muestras que hayan sido incubadas en rumen, capaces de generar calibraciones y posteriores validaciones fiables [16].

V. COMPOSICIÓN NITROGENADA DE LOS FORRAJES

En el contenido celular de las plantas podemos encontrar dos tipos de compuestos nitrogenados, la proteína verdadera y el nitrógeno no proteico, quedando ambas fracciones englobadas bajo el término de proteína bruta. En los forrajes verdes la proteína verdadera constituye por término medio un 75-90% del nitrógeno total [74], fundamentalmente en forma de enzimas solubles dentro de los cloroplastos y citoplasma y de proteínas insolubles en la membrana de los cloroplastos [50], siendo el resto nitrógeno no proteico en forma de aminoácidos libres y las amidas glutamina y asparagina, péptidos de cadena de longitud variable, aminas, ureidos, nucleótidos, clorofila y nitratos [52].

En los forrajes frescos, los cloroplastos contienen alrededor de 75% de la proteína total de la hoja [52]. La enzima fotosintética ribulosa-1-5 difosfato carboxilasa referida algunas veces como "fracción 1" de la proteína foliar constituye hasta 50% de la proteína de los cloroplastos y es la proteína foliar más abundante [50]. Mediante la masticación, esta enzima es enseguida liberada de la célula y rápidamente degradada en el rumen, provocando una rápida acumulación de amonio en el fluido ruminal [16]. El remanente de la proteína soluble en la planta (fracción 2), incluye una mezcla de proteínas solubles de los cloroplastos y del citoplasma que puede suponer 25% de la proteína foliar, siendo su tasa de degradación desconocida. Finalmente, las proteínas insolubles (fracción 3), en su mayoría ligadas a las membranas de los cloroplastos, asociadas con lípidos puede llegar a representar el 50% del total y es degradada lentamente. Una pequeña porción de las proteínas está en las mitocondrias y en el núcleo para las cuales se desconoce su tasa de degradación [50].

Por último, alguna proteína está unida a carbohidratos estructurales y tienen una lenta tasa de degradación [59]. Constituyen aproximadamente un 10% de la materia seca en las paredes celulares primarias, siendo la hidroxiprolina el aminoácido mayoritario, que aparece frecuentemente enlazado glicosídicamente a un tetrasacárido

do. Por otra parte, un porcentaje bajo del nitrógeno total de los forrajes está ligado a la lignina, componente indigestible de la pared celular [78]. Aunque las distintas fracciones de la proteína del forraje parecen tener diferentes tasa de proteólisis en el rumen, las mediciones "in sacco" sugieren que la degradabilidad de los forrajes en el rumen es en general alta [13, 59].

VI. FACTORES QUE AFECTAN LA DEGRADABILIDAD DE LOS FORRAJES

La magnitud de la degradación proteica de los forrajes en el rumen está afectada por numerosos factores relacionados con sus características físico-químicas (estado de madurez, especie forrajera, método de conservación), con la composición de la dieta y el manejo de la alimentación (presentación física, nivel de ingestión, proporción de forraje:concentrado), con el tipo de animal (especie, estado fisiológico) y con el tratamiento ejercido sobre el forraje como la molienda, el tratamiento térmico para el deshidratado, etc. [53].

La cantidad de proteína degradada en el rumen obedece a la velocidad de degradación y a la velocidad de tránsito. La velocidad de degradación proteica a su vez depende de la solubilidad y estructura de la proteína y de la actividad proteolítica de los microorganismos ruminales, que puede verse afectada por factores entre los que se cuentan, pH [56], tamaño de partícula [15], relación forraje:concentrado, etc. [7]. La tasa de tránsito condiciona el tiempo de exposición de las partículas del alimento al ataque microbiano por lo que junto a la eficacia del proceso fermentativo determinan la cantidad de nitrógeno o materia seca que se degrada en el rumen [67].

El factor principal que determina el tiempo de permanencia de las partículas en el rumen está ligado a su tamaño inicial y a la eficacia de los procesos de reducción de ese tamaño [63]. Las partículas con densidad intermedia comprendida entre 1,1 y 1,4 g/ml son las que pasan más rápidamente, mientras que los materiales con muy baja densidad, que tienden a flotar o por el contrario los muy densos, que tienden a hundirse y permanecer en el saco ventral del rumen, poseen mayores tiempos de permanencia en el rumen [63]. Otros factores relacionados con la dieta como el nivel de ingestión [40] y la relación forraje/concentrado [27, 28, 63] también pueden afectar la velocidad de tránsito ruminal y en consecuencia la degradabilidad ruminal de las proteínas.

1. Madurez de la planta

El término "madurez" generalmente abarca procesos de crecimiento y maduración de la planta que incluyen cambios fisiológicos, fenológicos y morfológicos. La maduración, es un proceso continuo, pero generalmente es considerado y evaluado nutricionalmente como un estado mayormente asociado a la morfología de la planta. La característica más común en la mayoría de los forrajes cuando avanza la madurez es una drástica reducción de la relación hoja:tallo. En las gramíneas, los contenidos de lignina y pared celular de tallos y hojas incrementan con la edad, en consecuencia su digestibilidad disminuye linealmente. El mismo efecto fue reportado en los tallos de leguminosas mientras que las hojas se mantuvieron sin variación en los contenidos de lignina, pared celular y porcentaje de digestibilidad [78].

La pared celular representa un obstáculo a la degradación, cuya magnitud depende de su grado de lignificación y de su estructura espacial [36]. Estos factores afectan en mayor medida a la degradabilidad efectiva de las materias nitrogenadas que a su degradabilidad potencial [9]. Cuando la proteína se encuentra asociada a otros compuestos o a la pared celular su solubilidad se ve disminuida y su velocidad de degradación es más lenta. Cuanto mayor sea el contenido de nitrógeno ligado a las fracciones FND y/o FAD mayor será la fracción insoluble y también la fracción indegradable de la proteína del forraje [78]. Los cambios que ocurren en los forrajes a medida que avanza la madurez resultan generalmente en una disminución del consumo y de su digestibilidad, ya que existe una asociación lineal y negativa entre la madurez y el valor nutritivo del forraje [23, 57]. Frecuentemente se ha asociado el aumento en la madurez de la planta con una reducción de la degradabilidad ruminal de la proteína [2, 10, 30, 39, 41], tanto que se ha desaconsejado cosechar el forraje a una madurez avanzada para tener una menor degradabilidad ruminal de la proteína, ya que las disminuciones de degradabilidad se alcanzan a expensas de otras medidas de calidad lo que no compensan el aumento de la proteína sobrepasante [25].

La disminución de la degradabilidad de la proteína asociada a incrementos de la madurez no resulta siempre en un aumento del aporte neto de nitrógeno o aminoácidos al intestino delgado. Frecuentemente los forrajes maduros tienen una menor concentración de proteína en sus tejidos y producen un menor consumo de materia orgánica digestible lo que ocasiona una disminución de proteína microbiana y del flujo neto de nitrógeno que llega al duodeno [30, 32]. Además, se ha observado una menor digestibilidad intestinal del nitrógeno en los forrajes maduros [31].

2. Especie vegetal

Es aceptado ampliamente que la magnitud y velocidad de degradación de la proteína del forraje en el rumen depende en gran medida de su solubilidad, estructura química y facilidad de acceso por parte de los microorganismos; factores que suelen estar afectados por la especie vegetal. Las comparaciones directas para estimar el efecto de la especie vegetal en la degradabilidad ruminal de la proteína son relativamente escasas. Sin embargo, se han detectado diferencias de hasta 24% en la degradabilidad de la proteína entre especies en condiciones similares de clima y manejo [20]. Las consistencias de estas diferencias han llevado a sugerir un plan convencional de mejora genética para obtener líneas de alfalfa con una proteína que pueda ser mejor utilizada por los rumiantes.

En términos generales, las proteínas en especies forrajeras leguminosas son más degradadas en el rumen que las de especies gramíneas [10, 53]. En animales alimentados con leguminosas de buena calidad, pueden ocurrir pérdidas netas de nitrógeno durante la digestión ruminal de manera que la entrada de nitrógeno al duodeno puede ser menor que el nitrógeno consumido [12]. En las especies gramíneas estas pérdidas suelen ser menores pues contienen algo menos de nitrógeno que las leguminosas y su proteína es menos degradada en el rumen. Especies con moderado contenido de taninos tienen una mayor proporción de proteína que escapa a la fermentación ruminal que las especies que no lo poseen como la alfalfa [23]. Sin embargo, algunas evidencias sugieren que las diferencias en la degradabilidad de la proteína entre leguminosas

solo son parcialmente explicadas por la presencia de taninos [18]. La presencia de compuestos fenólicos como taninos en forma condensada, provocan un efecto depresivo sobre la degradabilidad proteica de las especies forrajeras que los contienen, ya que se unen a los radicales libres de la proteína y forman compuestos insolubles en el rumen. Además, pueden ocasionar un descenso en la permeabilidad de las células epiteliales de la pared intestinal reduciendo la digestibilidad [17, 23, 46].

3. Factores ambientales

La información acerca del efecto de los factores ambientales en la calidad del forraje es muy limitada y está centrada fundamentalmente en la evaluación de elementos individuales. Actualmente se conoce muy poco acerca de la interacción entre componentes ambientales y su efecto conjunto en la calidad del forraje, que es lo que normalmente sucede bajo condiciones de campo. Esta situación se hace más aguda cuando se hace referencia a información sobre los efectos específicos de la fluctuación ambiental en la degradabilidad ruminal de los forrajes tropicales.

Las plantas rara vez crecen bajo condiciones ambientales ideales. Por el contrario, lo que ocurre es que a menudo están sometidas a fluctuaciones que modifican su morfología, limitan su producción y alteran su calidad. Los elementos ambientales capaces de originar estos cambios en la planta son muy numerosos y entre ellos se encuentran la temperatura, estrés hídrico, radiación solar, deficiencias de nutrientes y plagas. En general, tienen su principal efecto en la producción de forrajes más que en la digestibilidad u otro principio de calidad. Sin embargo, frecuentemente influyen en la calidad del forraje alterando la relación hoja:tallo, causando modificaciones morfológicas, variando la composición química de la planta [57] y modificando la degradabilidad ruminal de la materia seca [5] y proteína bruta del forraje [4, 5].

La temperatura es el componente ambiental que más influye en la calidad de los forrajes; un aumento de la temperatura normalmente acelera la madurez de la planta [24] e incrementa las proporciones de fibra ácido detergente y de lignina que han sido asociadas con disminuciones en la digestibilidad de la materia seca y en la degradabilidad de la proteína en el rumen [10, 30, 41]. Con temperaturas elevadas, el forraje es menos digestible y su digestibilidad declina más rápidamente con la madurez que con temperaturas suaves. Tanto en las hojas como en los tallos la digestibilidad es menor a temperaturas elevadas debido a una mayor proporción de pared celular y menor concentración de carbohidratos no estructurales. Igualmente, se ha reportado una disminución de la degradabilidad ruminal efectiva de la materia seca y proteína en gramíneas [24] y en heno de leguminosas [4], cortados en épocas calurosas. La duración del día y la intensidad de la radiación influyen sobre la morfología, crecimiento, floración y madurez de la planta. Generalmente fotoperiodos largos resultan en una mejor calidad del forraje debido a que una mayor actividad fotosintética incrementa los azúcares solubles y disminuye la proporción de pared celular [81].

4. Métodos de conservación del forraje

Se han reportado diferencias entre la degradabilidad del nitrógeno para el pasto fresco (84,7%) y el heno (80,6%) que se atribuyen al método de conservación [8].

La fracción de proteína que escapa a la fermentación ruminal suele ser mayor en heno y forrajes deshidratados artificialmente que en ensilados y forrajes frescos [53]. El heno tiene una mayor fracción de proteína soluble que el forraje fresco probablemente debido a la proteólisis que se realiza durante el secado. Las enzimas proteolíticas actúan inmediatamente después del corte e hidrolizan la proteína a péptidos y aminoácidos que pueden ser degradados (de 25 a 60%) a nitrógeno no proteico. Sin embargo, la degradabilidad efectiva del heno resulta menor que la del forraje fresco debido a una más lenta velocidad de degradación y una mayor fracción indegradable [79]. La mayor degradabilidad del forraje fresco con relación al heno puede atribuirse a que la actividad proteolítica de las proteasas de la planta fresca se sumen a la actividad bacteriana o genere cambios en la población microbiana que favorecen a la proteólisis en el rumen [79].

El ensilaje ocasiona un catabolismo del nitrógeno proteico del forraje a través de un efecto combinado de la acción proteolítica de enzimas de la planta y la actividad microbiana del ensilado, lo que está asociado a una reducción en la eficiencia de utilización del nitrógeno del ensilado por los rumiantes [33, 75]. La actividad de las proteasas es óptima a un pH entre 4 y 8 y con un alto contenido de humedad. De manera que la proteólisis en el ensilado puede ser inhibida parcialmente por el secado [54] y el uso de aditivos ácidos como el ácido fórmico [79].

5. Procesamiento físico del forraje

En general, se ha observado que el picado del forraje tiene poco efecto en la magnitud y el sitio de digestión [37]. Sin embargo, el molido fino y el granulado habitualmente aumentan el flujo del nitrógeno y aminoácidos al duodeno [15]. La molienda a un tamaño inferior a 1-2mm destruye la estructura tridimensional de las partículas que facilita la permanencia de los microorganismos celulolíticos para realizar la degradación "desde dentro" [22]; ello afecta negativamente la intensidad de la degradación de los componentes de la pared celular y en menor grado de la materia orgánica. Además, la reducción del tamaño de partícula por el molido fino del forraje puede incrementar la tasa de dilución ocasionando un aumento en la velocidad de tránsito ruminal [67]. Ambos factores contribuyen a disminuir la digestión ruminal y aumentar la proteína del forraje que llega al duodeno [53]. Sin embargo, debe considerarse que la densidad de las partículas del alimento además de su tamaño, afecta la velocidad con que estas abandonan el rumen; el molido fino al influir negativamente la degradación podría retrasar el tiempo necesario para que alcancen la densidad óptima [45].

La resistencia a la proteólisis a nivel ruminal aumenta con la intensidad del tratamiento térmico. Sin embargo, un exceso en el calentamiento puede provocar la disminución permanente de la disponibilidad de la proteína a través de la formación de compuestos de Maillard o reacciones de amarronamiento no enzimático. Esta reacción consiste en la degradación de azúcares a compuestos fenólicos, la condensación de los mismos con aminoácidos y su posterior polimerización formando una sustancia parda. La reacción más trascendente es la condensación con aminoácidos, por lo cual las proteínas quedan indigestibles particularmente aquellas con grupos aminofílicos libres como las formadas por lisina, metionina o aminoácidos aromáticos [78].

Existe un rango de condiciones óptimas de temperatura y tiempo de aplicación para cada alimento que produce un máximo de coagulación y un mínimo de compuestos de Maillard, con el fin de lograr la máxima protección ruminal sin detrimento de su digestibilidad intestinal. La deshidratación industrial de la alfalfa puede ocasionar una disminución en la degradabilidad efectiva del nitrógeno de 82,7 a 77,7% a nivel ruminal como consecuencia de una disminución de la velocidad de degradación (de 30,8 a 12,4%h⁻¹) [65]. Sin embargo, en ocasiones la digestibilidad intestinal del nitrógeno puede disminuir como consecuencia de daños que el calor puede ocasionar en la proteína [62].

6. Proporción de forraje:concentrado

Durante los últimos años, los alimentos concentrados constituidos por cereales y subproductos ricos en proteínas han sido mezclados con forrajes para formar las dietas completas de rumiantes de alta producción en los cuales resulta imposible cubrir los requerimientos con dietas basadas exclusivamente de forrajes [80]. El suplemento energético más común para las dietas basadas en forrajes, contiene altos niveles de carbohidratos en una forma que es más rápida y fácilmente digestible que la fibra presente en el forraje. En contraste, muchos de los concentrados proteicos empleados como suplementos en este tipo de dietas contienen proteínas menos degradables a nivel ruminal que las proteínas del forraje, puesto que la menor velocidad de liberación del nitrógeno proporciona una mejor fuente de nitrógeno para los microorganismos que digieren la fibra en el rumen [13].

El efecto de la suplementación en la utilización del forraje es muy variable y está estrechamente relacionado con el nivel de suplementación y calidad del forraje y concentrado utilizado. Sin embargo, mezclas de forraje y concentrado deben resultar en una mayor y más eficiente síntesis de proteína microbiana que la alcanzada con forraje o concentrado solo debido a una optimización de la disponibilidad del sustrato fermentable para los microorganismos del rumen [76]. La naturaleza de la dieta puede alterar el crecimiento y la composición de los microorganismos del rumen. Por tanto, un desequilibrio en los aportes de sustratos energéticos y nitrogenados o en su velocidad de digestión, puede afectar significativamente el resultado de la digestión ruminal [19,26].

Existe una disminución significativa de la degradabilidad de la proteína para henos de diferente composición química cuando se eleva el nivel de concentrado en la ración, como consecuencia de una reducción en la fracción de proteína soluble y de la velocidad de degradación de la fracción potencialmente degradable [3]. Evaluando distintos alimentos de origen vegetal se ha detectado en todos ellos una reducción de la degradabilidad de la proteína bruta al aumentarse el nivel de concentrado en la dieta, lo que ha sido atribuido fundamentalmente a una disminución de la tasa fraccional de degradación [37]. La disminución de la degradabilidad de la proteína cuando se incrementa el nivel de concentrado de la ración parece depender de cambios no asociados al pH ruminal que se suceden en la microflora del rumen [11]. Por otra parte este hecho es consecuencia del mayor efecto protector que ejerce la fibra ante la degradación ruminal, como resultado del menor desarrollo de bacterias celulolíticas a las que inducen las dietas altas en concentrados [36]. Sin embargo, la observación de una dis-

minución en la tasa de degradación de distintos alimentos con independencia de su contenido de fibras sugiere que la causa es una menor densidad microbiana, ya que la disminución de la velocidad de degradación se acompañó de una reducción del ritmo fraccional de tránsito del alimento a través del rumen [38]. La reducción de la relación forraje:concentrado tuvo un efecto positivo en la eficiencia digestiva de la proteína bruta de la alfalfa fresca y deshidratada, derivada de una reducción de la degradabilidad efectiva y de un cambio del sitio de digestión desde el rumen al intestino. El incremento de la digestión de la proteína bruta digestible fue mayor que la disminución de la síntesis de proteína bruta microbiana [31].

La más rápida degradación ruminal de la proteína bruta que resulta con dietas ricas en forrajes en comparación con los altos niveles de concentrado se debe a los efectos de un mayor pH ruminal que estimula la actividad microbiana [79]. A niveles altos de concentrado se ha observado una disminución de la eficacia en la síntesis de proteína microbiana [7, 49]; esto es debido a una elevada tasa de degradación de carbohidratos no estructurales (almidón) que puede resultar en una fermentación desacoplada con una liberación de energía mucho más rápida de la que puede ser usada por las bacterias ruminales. Una fermentación sincronizada entre la fuente de almidón y proteína produce un incremento en la síntesis de proteína microbiana [7].

7. Nivel de ingestión

El incremento del nivel de ingestión en bovinos, acelera la tasa de tránsito ruminal de la digesta, lo que generalmente ha sido asociado a una disminución de la digestibilidad ruminal de la pared celular debido a una reducción en la duración de las acciones microbianas [26, 66, 68]. La disminución en la degradabilidad ruminal de la fibra puede ser compensada en parte, por un incremento en la digestión o fermentación postruminal ya que una mayor proporción de material potencialmente degradable está disponible para ser digerido en el intestino o ser degradado por los microorganismos del ciego y del colon [22]. El efecto del nivel de ingestión en la degradabilidad ruminal de la proteína parece estar restringido a dietas con niveles altos de concentrados y su efecto se hace evidente a elevados niveles de consumo [79].

Una disminución en la degradabilidad ruminal de la proteína ha sido observada cuando se incrementó el nivel de ingestión de dietas basadas en concentrado [73], mientras que con dietas basadas en forrajes no se detectó ningún efecto [66]. La degradabilidad ruminal de las materias nitrogenadas esta poco afectada por el nivel de ingestión, probablemente debido a posibles modificaciones en la actividad microbiana que también aceleran la velocidad de degradación de las materias nitrogenadas compensándose total o parcialmente el efecto de una mayor velocidad de tránsito con una mayor velocidad de degradación [38, 68].

VII. CONCLUSIONES

Los nuevos sistemas de valoración proteica de alimentos para rumiantes están basados en el concepto de aminoácidos absorbibles en el intestino delgado provenientes de la suma de la proteína microbiana sintetizada en el rumen, la proteína alimenticia que escapa a la degradación ruminal, el nitrógeno endógeno y sus digestibilidades

intestinales. De forma que se puede hacer una formulación más precisa teniendo en cuenta las necesidades de los animales y la de microorganismos ruminales. Sin embargo, en la actualidad la base de datos de los alimentos y forrajes tropicales comúnmente usados en la ganadería de doble propósito es reducida y existe muy poca información acerca de la variabilidad de estos parámetros. Debido al elevado potencial de variación que existe en los forrajes a causa de factores genéticos, ambientales y de manejo es muy importante ampliar la base de datos para así alcanzar una razonable aplicación práctica.

VIII. LITERATURA CITADA

- [1] AFRC Agricultural and Food Research Council. 1992. Technical Committee on Responses to Nutrients Report No 9. Nutritive Requirements of Ruminant Animals: Nutr. Abstr. Rev. (Series B), 62, 787.
- [2] Albrecht, K.A., Wedin, W.F., Buxton, D.R. 1987. Cell-wall composition and digestibility of alfalfa stems and leaves. *Crop. Sci.* 27:35.
- [3] Alvir, M.R. 1987. Estudio de los factores que influyen la degradación ruminal de las materias nitrogenadas de los forrajes conservados. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Politécnica de Madrid.
- [4] Alvir, M.R., Faría, J., Panigua, E., Rodríguez, C., González, J. 1999. Efecto del número de corte sobre la degradabilidad de la proteína bruta de los henos de alfalfa. ITEA. Vol. Extra. 20: 508.
- [5] Alvir, M.R., Faría, J., Panigua, E., González, J., Rodríguez, C. 2000. Efecto del número de corte sobre la degradabilidad ruminal de la materia seca y de la proteína bruta del heno de alfalfa. XVI Reunion Latinoamericana de Producción Animal. Montevideo, Uruguay.
- [6] ARC. 1984. The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock (Supl. N° 1). Technical Review Agricultural Research Council Working Party, CAB, Farnham Royal, Slough.
- [7] Archimede, H., Sauvant, D., Schmidely, P. 1997. Quantitative review of ruminal and total tract digestion of mixed diet organic matter and carbohydrates. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 37:, 173.
- [8] Aufrère, J., Boulbehane, D., Graviou, D. 1994. Dégradation dans le rumen de l'azote des parois d'une même luzerne, verte ou ensilée". *Ann.Zootech.* 43: 273.
- [9] Aufrère, J., Graviou, D., Demarquilly, C., Verité, R., Michalet-Doreau, B., Chapoutot, P. 1991. Predicting *in situ* degradability of feed proteins in the rumen by two laboratory methods (solubility and enzymatic degradation)". *Anim. Feed Sci. Technol.* 33:97.
- [10] Balde, A.T., Vandersall, J.H., Ederman, R.A., Reeves III, J.B., Glenn, B.P. 1993. Effect of stage of maturity of alfalfa and orchard grass on *in situ* dry matter and crude protein degradability and amino acid composition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 44: 29.
- [11] Barrios, J.R., Goetsch, A.L., Owens, F. 1986. Effect of dietary concentrate on *in situ* dry matter and nitrogen disappearance of variety of feedstuffs. *J. Dairy Sci.* 69: 420.
- [12] Beever, D.E., Dhanoa, M.S., Losada, H.R., Evans, R.T., Cammell, S B., France, J. 1986. The effect of forage species and stage of harvest on the processes of digestion occurring in the rumen of the cattle. *Br. J. Nutr.*, 57: 439.

- [13] Beever, D.E., Mould, F.L. 2000. Forage evaluation for efficient ruminant livestock production. En: Forage evaluation in ruminant nutrition. D.I. Givens., E. Owen., R.F.E. Axford, H. M. Omed (eds).
- [14] Beever, D.E., Offer, N., Gill, M. 2000. The feeding value of grass and grass products. En: Grass its production & utilization. A. Hopkins (ed). Blackwell Science Ltd.
- [15] Beever, D.E., Osbourn, D.F., Cammell, S.B., Terry, R. A. 1981). The effects of grinding and pelleting on the digestion of Italian ryegrass and timothy by sheep. *Br. J. Nutr.* 46: 357.
- [16] Broderick, G.A. 1994. Quantifying forage protein quality. En: Forage Quality, Evaluation, and Utilization. G. Fahey, M. Collins, D. Mertens, L. Moser (eds). Wisconsin, USA.
- [17] Broderick, G.A. 1995. Desirable characteristic of forage legumes for improving protein utilization in ruminants. *J. Anim. Sci.* 73: 2760.
- [18] Broderick, G.A., Albercht, K. 1997. Ruminal *in vitro* degradation of protein in tannin-free and tannin-containing forage legume species. *Crop Sci.* 37: 1884.
- [19] Broderick, G.A., Abrams, S.M., Rotz, C.A. 1992. Ruminal "*in vitro*" degradability of protein in alfalfa harvested as standing forage or baled hay. *J. Dairy Sci.* 75: 2440.
- [20] Broderick, G.A., Buxton, D.R. 1991. Genetic variation in alfalfa for ruminal protein degradability. *Can. J. Plant. Sci.* 71: 755.
- [21] Broderick, G. A., Merchen, N.R. 1992. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. *J. Dairy Sci.* 75: 2618.
- [22] Broderick, G.A., Wallace, R.J., rskov, E.R. 1991. Control of rate and extend protein degradations. En: Physiological aspect of digestion and metabolism in ruminants. T. Tsuda, Y. Sasaki, R. Kawashima (eds). Academic Press, California.
- [23] Buxton, D.R. 1996. Quality-related characteristics of forages as influenced by plant environment and agronomic factors. *Anim. Feed Sci. Technol.* 59: 37.
- [24] Buxton, D.R., Fales, S. 1994. Plant environment and quality". En: Forage Quality, Evaluation, and Utilization. G. Fahey., M. Collins., D. Mertens, L. Moser (eds). Wisconsin, USA.
- [25] Cassida, K.A., Griffin, T.S., Rodriguez, J., Patching, S.C., Hesterman, O.B., Rust, S.R. 2000. Protein degradability and forage quality in maturing alfalfa, red clover and birds-foot trefoil. *Crop Sci.* 40: 209.
- [26] Colucci, P.E., Chase, L.E., Van Soest, P.J. 1982. Feed intake, apparent diet digestibility, and rate of particulate passage in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 65: 1445-1456.
- [27] Colucci, P.E., McLeod, G.K., Grovum, W. L., Cahill, L.W., McMillan, I. 1989. Comparative digestion in sheep and cattle fed different forage to concentrate ratios at high and low intakes. *J. Dairy Sci.* 72:1774-1785.
- [28] Colucci, P.E., McLeod, G.K., Grovum, W.L., Mcmillan, I., Barney, D.J. 1990. Digesta kinetics in sheep and cattle fed diets with different forage to concentrate ratios at high and low intakes. *J. Dairy Sci.* 73: 2143.
- [29] Demeyer, D.I. 1991. Quantitative aspects of microbial metabolism in the rumen and hindgut. En *Rumen microbial metabolism and ruminant digestion.* J. P. Jouany (ed). Ediciones INRA. Paris.
- [30] Elizalde, J.C., Merchen, N.R., Faulkner, D.B. 1999. In situ dry matter and crude protein degradation of fresh forages during the growth. *J. Dairy Sci.* 82: 1978.

- [31] Faría-Mármol, J., González, J., Rodríguez, C., Alvir, M.R. 2002. Effect of diet forage to concentrate ratio on rumen degradability and postruminal availability of protein from fresh and dried lucerne. *Anim. Sci.* 74: 337.
- [32] Faría-Mármol, J., Rodríguez, C., Alvir, M.R., González, J. 2002. Relación entre la composición química y la degradabilidad ruminal de la proteína bruta de las alfalfas verdes. *Actas XLII Reunión Científica de la Sociedad Española de los Pastos.* 434.
- [33] Faría-Mármol, J., González, J., Alvir, M.R., Rodríguez, C. 2002. Efecto del ensilado sobre la degradabilidad ruminal del maíz forrajero y del ray-grass italiano. *Actas XLII Reunión Científica de la Sociedad Española de los Pastos.* 497.
- [34] FAO. 1996. *FAO Production Yearbook, 1995*. Ed: Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- [35] Fitzhugh, H.A., Hodgson, H.J., Scoville, O.J., Nguyen, T.D., Byerly, T.C. 1978. The role of ruminant in support of man: Winrock Report. Winrock Foundation, Morrilton, Arkansas.
- [36] Ganey, G., rskov, E.R., Smart, R. 1979. The effects of roughage or concentrate feeding and rumen retention time on total degradation of protein in the rumen. *J. Agric. Sci. Camb.* 93: 651.
- [37] García, P. 1991. Degradación de las materias nitrogenadas de los alimentos en el rumen. Estudio de los principales factores de variación relativos a la composición de la dieta. Tesis Doctoral Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid.
- [38] González, J., Michalet-Doreau, B., Poncet, C. 1987. Effects du niveau d'ingestion du pourcentage de concentré dans la ration sur la dégradabilité de l'azote *in sacco* chez le mouton. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 27: 255.
- [39] González, J., Faría-Mármol, J., Rodríguez, C., Alvir, M.R. 2001. Effects of stage of harvest on the protein value of fresh lucerne for ruminants. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 41: 381.
- [40] Grovum, W. L., Williams, V. J. 1977. Rate of passage of digesta in sheep. 6. The effects of the level of food intake on mathematical predictions of the kinetics of digesta in the reticulo-rumen and intestines. *Br. J. Nutr.* 38: 425.
- [41] Hoffman, P.C., Sievert, S.J., Shaver, R.D., Welch, D.A., Combs, D.K. 1993. *In situ* dry matter, protein and fiber degradation on perennial forage". *J. Dairy Sci.* 76: 2632.
- [42] Huntington, J.A., Givens, D.I. 1995. The *in situ* technique for studying the rumen degradation of feeds: a review of the procedure. *Nutr. Abst. and Rev. (series B).* 65: 63.
- [43] INRA. 1978. Alimentation des ruminants. INRA Publications, Paris.
- [44] INRA 1990. Alimentación de bovinos, ovinos y caprinos. R. Jarrige (ed). Ediciones INRA, Paris.
- [45] Kennedy, P.M., Murphy, M.R. 1988. The nutritional implications of differential passage of particles through the ruminant alimentary tract. *Nutr. Research Rev.* 1: 189.
- [46] Kumar, M.V. y Sing, V. (1984) "Tannis, their adverse role in ruminant nutrition". *J. Agric. Food Chem.* 32:447.
- [47] Leng, R.A., Nolan, J.V. 1984. Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 67: 1072.
- [48] Mahadevan, S., Erfle, J.D., Sauer, F.D. 1980. Degradation of soluble and insoluble proteins by *Bacteroides amylophilus* protease and by rumen microorganisms. *J. Anim. Sci.* 50: 723.

- [49] Mathers, J.C., Millers, E.L. 1981. Quantitative studies of food protein degradation and the energetic efficiency of microbial protein synthesis in the rumen of sheep given chopped lucerne and rolled barley. *Br. J. Nutr.* 45: 587.
- [50] Mangan, J.L. 1982. The characterization of forage protein. En *Forage protein in ruminant animal production*. Occas. Publ. No 6 Br. Soc. Anim. Prod. J.D. Thompson, D.E. Beever, R.G. Gunn (eds). Ed. Thames, Ditton, England, 25.
- [51] McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A. 1985. *Animal nutrition*. Fifth edition. Logman. London, UK.
- [52] McDonald, P., Henderson, A.R., Heron, S.J.E. 1991. *The biochemistry of silage*. Second edition. Calcombe Publications, Marlow Bottom, Marlow, Bucks, UK.
- [53] Merchen, N.R., Bourquin, L.D. 1994. Processes of digestion and factors influencing digestion of forage-based diets by ruminants. En *Forage quality, Evaluation, and Utilization* G. Fahey., M. Collins., D. Mertens., L. Moser (eds). Wisconsin, USA.
- [54] Merchen, N.R., Satter, L.D. 1983. Changes in nitrogenous compounds and sites of digestion of alfalfa harvested at different moisture contents. *J. Dairy Sci.* 56: 943.
- [55] Mould, F.L. 1998. Associative effects of feeds. En *Feed science*. E.R. rskov (ed). Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam.
- [56] Mould, F.L., rskov, E.R. 1983. Manipulation of rumen fluid pH and its influence on celluloses *in sacco*, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 10: 1.
- [57] Nelson, C.J., Moser L.E. 1994. Plant factors affecting forage quality. En *Forage quality, Evaluation, and Utilization*. G. Fahey., M. Collins., D. Mertens, L. Moser (eds). Wisconsin, USA.
- [58] NRC. 1985. *Ruminant nitrogen usage*. National Academy Press, Washington.
- [59] Nugent, J.H.A., Mangan, J.L. 1981. Characteristics of the rumen proteolysis of fraction I (18S) leaf protein from lucerne (*Medicago sativa*). *Br. J. Nutr.* 46: 39.
- [60] Orskov, E.R. 1982. *Protein nutrition in Ruminants*. Academic Press. London.
- [61] Orskov, E.R., McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric.Sci. Camb.* 92: 499.
- [62] Pereira, J.C., Carro, M.D., González, J., Alvir, M., Rodriguez, C.A. 1998. Rumen degradability and intestinal of brewers'grains as affected by origin and heat treatment and of barley rootlets". *Anim. Feed Sci. Technol.* 74: 107.
- [63] Poncet, C., González, J., Michalet-Doureau, B. 1987. Effets du pourcentage de concentré de la ration et du niveau d'ingestion sur la vitesse de passage dans le rumen de différents types d'aliments dans le mouton". *Reprod. Nutr. Dévelop.* 27: 257.
- [64] Price, S.G., Satter L.D., Jorgensen N. A. 1988. Dehydrated alfalfa in dairy cow diets. *J. Dairy Sci.* 71: 727.
- [65] Repetto, J.L., González, J., Cajarville, C. 2000. Effect of dehydration on ruminal degradability of lucerne. *Ann. Zootech.* 49: 113.
- [66] Robinson, P.H., Sniffen, C.J., Van Soest, P.J. 1985. Influence of level of feed intake on digestion and bacterial yield in the forestomachs of dairy cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 65: 437.
- [67] Rode, M.L., Weakley, D.C., Satter, L.D. 1985 Effects of forage amount and particle size in diets of lactating dairy cows on site and microbial protein synthesis. *Can. J. Anim. Sci.* 65: 101.

- [68] Rodríguez, C.A., González, J., Alvir, M.R., Cajarville, C., Repetto, J.L. 2000. Efecto del nivel de ingestión sobre la contaminación microbiana y la degradabilidad ruminal in situ de dos tipos de forraje. *Memorias de la XVI Reunión Latinoamericana de Producción Animal*. Montevideo-Uruguay.
- [69] Siddons, R.C., Paradine, J. 1981. Effect of diet on protein degrading activity in the sheep rumen. *J. Sci. Food Agric.* 32: 973.
- [70] Sniffen, C.J., O'Connor, J.D., Van Soest, P.J., Fox D.G., Russell, J. B. 1992. A Net Carbohydrate and Protein System for evaluating Cattle Diets: II. Carbohydrate and Protein Availability". *J. Anim. Sci.* 70: 3562.
- [71] Stern, M.D., Satter L.D. 1984. Evaluation of nitrogen solubility and the dacron bag technique as methods for estimating protein degradation in the rumen. *J. Anim. Sci.* 58: 714.
- [72] Tammiga, S., Chen, X.B. 2000. Animal-based technique for the estimation of protein value of forages. En: *Forage evaluation in ruminant nutrition*. D. I. Givens., E. Owen., R.F.E. Axford., H. M. Omed (eds).
- [73] Tammiga, S., Van der Koel, C.J., Van Vuuren, A. M. 1979. Effect of level of feed intake on nitrogen entering the small intestine of dairy cows. *Livest. Prod.Sci.* 6: 255.
- [74] Thomas, C., Chamberlain, D.G. 1982. The utilization of silage nitrogen. En *Proceeding of a Seminar on forage protein conservation and utilisation*. Dublin. T.W. Griffiths, M.F. Maguire (eds), pp 121.
- [75] Thomas, C.T., Thomas, P.C. 1985. Factors affecting the nutritive value of grass silage. En: *Recent Advances in Animal Nutrition*. W. Haresing, D.J.A. Cole (eds). Butterworths, London.
- [76] Valdés, C., Carro, M.D., Ranilla, M.J., González, J. 2000. Effect of forage to concentrate in complete diets offered to sheep on voluntary food intake and some digestive parameters. *Anim Sci.* 70: 119.
- [77] Van der Meer, H.G., Wedin, W.F. 1989. Present and future role of grasslands and fodder crops in temperate countries with special reference to over-production and environment. En *Proceeding XVI International Grassland Congress*, The French Grassland Society, Nice, 1711.
- [78] Van Soest, P.J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. Cornell University Press, Ithaca.
- [79] Van Straalen, W.M., Tamminga, S. 1990. Protein degradation of ruminant diets. En *Feedstuff evaluation*. J. Wiseman, D.J.A. Cole (eds). Butterworths, London.
- [80] Veerkamp, R.F., Simm, G., Oldham, J.D. 1994. Effects of interaction between genotype and feeding systems on milk production, feed intake, efficiency and body tissue mobilization in dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 39: 229.
- [81] Wilson, J. R. 1982. Environmental and nutritional factors affecting herbage quality. En *Nutritional limits to animal production from pastures*. J.B. Hacker (ed). CAB, Farnham, UK.