

III

PROTEÍNA PARA VACAS LECHERAS

DR. D. ALBERTO PACIOS FERNÁNDEZ

Veterinario



Aspecto del Salón de Actos.

1. CONCEPTO, TIPO Y FUNCIONES DE LAS PROTEÍNAS

1.1. Concepto de Proteína

Las proteínas son sustancias muy complejas que están presentes en todos los organismos vivos. La propiedad común a todas las proteínas es que están formadas por largas cadenas de aminoácidos unidos entre sí mediante el llamado enlace peptídico. Aunque en la naturaleza se han hallado más de 100 aminoácidos (sobre todo en las plantas), en la mayor parte de las proteínas sólo se encuentran unos 20 aminoácidos.

Las proteínas que tienen una función similar presentan una secuencia de aminoácidos parecida, pero no es posible conocer la función de una proteína a partir de su secuencia. Las proteínas tienen una doble especificidad: de especie (una misma proteína que pertenezca a especies animales o vegetales distintas no tiene la misma secuencia de aminoácidos, aunque puede ser muy parecida), y de órgano (las proteínas del músculo, por ejemplo, son muy diferentes a las del hígado o riñón).

La determinación del contenido en proteína de un alimento es complicada y en muchos casos irrealizable; sin embargo, el contenido en nitrógeno de las proteínas varía muy poco sobre el 16%, por ello suele calcularse el contenido en nitrógeno de un alimento y multiplicarse por el factor 6,25. La expresión "proteína bruta" (PB) ó " $N \times 6,25$ " indica el contenido en proteína calculado a partir del contenido en nitrógeno de un alimento, pero no representa con exactitud el contenido en proteína porque en el análisis rutinario mediante el método de Kjeldhal se determina el contenido total de nitrógeno 10 que engloba formas de nitrógeno no proteico (NNP) como sales inorgánicas, urea, sales amónicas o ácidos nucleicos. Por este motivo, en la nutrición de los rumiantes se divide la proteína bruta en proteína verdadera y nitrógeno no proteico.

Los vegetales que realizan la fotosíntesis son capaces de sintetizar todos los aminoácidos a partir de materias inorgánicas (CO₂, nitratos y otras sales minerales y agua) y luz. Las bacterias pueden sintetizar aminoácidos y proteína a partir de NNP siempre que dispongan de un sustrato apropiado que aporte energía. Los animales, sin embargo, no son capaces de sintetizar aminoácidos ni proteína a partir de fuentes inorgánicas y necesitan ingerir aminoácidos preformados para la síntesis proteica. Magendie (1.816) descubrió hace ya casi dos siglos que todo el nitrógeno presente en el organismo animal procede del nitrógeno ingerido en la alimentación.

Los rumiantes se caracterizan por contener una población microbiana simbiótica que les permite utilizar materiales celulósicos. Estos microbios pueden también sintetizar proteína a partir de NNP. Hace un siglo, Weiske (1.897) observó que los rumiantes podían obtener proteína a partir del nitrógeno inorgánico. Puesto que los rumiantes son capaces de utilizar tanto la proteína verdadera como el NNP, es habitual expresar las necesidades en términos de PB (si bien con algunas correcciones), en tanto no se desarrollen otros sistemas, quizá más apropiados desde el punto de vista de la fisiología, basados en proteína neta.

El rumiante necesita aminoácidos para el mantenimiento de sus funciones vitales y productivas. Tiene unas necesidades de mantenimiento unidas a pérdidas inevitables de proteína y de productos del catabolismo proteico (descamaciones de piel, pelo y pezuñas, pérdidas de N en la orina), más la proteína que no es digerida y se elimina con las heces. El resto es utilizado con fines productivos: crecimiento corporal, desarrollo del feto y de los anejos fetales, deposición de caseína y de otras proteínas en la leche. El nitrógeno proviene de la alimentación: proteína verdadera en sus dos fracciones (proteína no degradable en el rumen -PNDR-, y proteína degradable -PDR-), y secreciones endógenas de nitrógeno. Esta proteína verdadera, junto con el NNP, es utilizado por la población microbiana del rumen y llega al intestino una proteína que puede ser de dos tipos: la parte de la proteína del alimento que no es degradada en el rumen y la parte de la proteína microbiana. La Figura 1 muestra un esquema de del metabolismo el N en los rumiantes.

1.2. Tipos de Proteína

Haurowitz (1.979) ha realizado una clasificación funcional de las proteínas en varios tipos:

a) Proteínas estructurales.

Son las proteínas que sirven como soporte físico para el mantenimiento del organismo. Por lo general, son poco reactivas, y entre ellas están las escleroproteínas como el colágeno y elastina que dan firmeza al tejido conjuntivo, o la queratina que forma las uñas, cuernos, pezuñas y el exoesqueleto de los artrópodos. Las proteínas musculares (actina y miosina), además de su función contráctil, sostienen el organismo animal. Por último, el fibrinógeno y la fibrina son ejemplos de proteína que es capaz de endurecerse para formar coágulos que mantengan la estructura de los vasos sanguíneos en caso de daños o roturas.

b) Albúminas, globulinas y otras proteínas solubles.

Son las proteínas que se encuentran en los líquidos orgánicos. En la sangre se encuentran numerosas albúminas y globulinas (que se distinguen porque las primeras precipitan a pH ácido) igual que en los productos animales como el huevo (que contiene ovoalbúmina, lisozima, ovoglobulina) y en la leche (lactoalbúmina, lactoglobulina, caseína, anticuerpos, etc).

c) Proteínas conjugadas.

Se denominan proteínas conjugadas a aquellas que están formadas por una fracción proteica unida a un grupo de naturaleza química diferente denominado grupo prostético.

Si el grupo prostético es de naturaleza glucídica, se denominan glicoproteínas. Algunas tienen función de sostén como los ácidos hialurónico y condroitín sulfúrico que forman parte del cartílago. Otras intervienen en funciones de defensa pasiva (formando la mucosidad que protege las membranas mucosas) y activa (como la lisozima presente en la saliva que tiene acción bacteriostática). En el líquido sinovial hay glicoproteínas con efecto lubricante.

Los lípidos pueden unirse a las proteínas para formar lipoproteínas, mecanismo que permite el transporte de lípidos en la sangre sin que se formen embolias.

Se denominan metaloproteínas a aquellas que contienen uno o más átomos metálicos. Muchas de ellas tienen extraordinaria importancia como la hemoglobina (que transporta oxígeno a los tejidos), el citocromo *c* (que interviene en el transporte de electrones en la mitocondria), la ferritina (que sirve para mantener hierro de reserva y transportarlo), la cianina

(que realiza en los crustáceos la misma función que la hemoglobina en los vertebrados), la miglobina del músculo y numerosos enzimas.

Las nucleoproteínas son uniones de ácido nucleico y proteína, y como tales se consideran a los virus, los cromosomas (donde el ADN está unido a proteínas que permiten o no que se traduzca su información) y los ribosomas.

Por último, hay que indicar que en muchas proteínas los radicales de ciertos aminoácidos como la serina pueden estar esterificados con ácido fosfórico, formando las fosfoproteínas, un ejemplo de las cuales es la caseína de la leche.

d) Proteínas catalíticas.

Son las enzimas, proteínas capaces de acelerar la velocidad de reacción de los procesos metabólicos. Sin la presencia de enzimas, las reacciones químicas de los organismos vivos tendrían lugar a una velocidad mucho menor. La Unión Internacional de Bioquímica recomendó en 1965 dividir las enzimas en seis grandes grupos de acuerdo con sus efectos:

- *Oxidorreductasas*: Catalizan reacciones de oxidorreducción y requieren coenzimas como NAD, FAD, etc. para aceptar o aportar electrones.
- *Transferasas*: Catalizan la transferencia de grupos químicos o radicales desde una molécula a otra.
- *Hidrolasas*: Catalizan la hidrólisis de enlaces tipo éster en los lípidos, de tipo glucídico en los hidratos de carbono y enlaces peptídicos en proteínas y péptidos.
- *Liasas*: Incluyen un gran número de enzimas que rompen enlaces carbono-carbono, carbono-oxígeno y carbono-nitrógeno.
- *Isomerasas*: Catalizan la transformación de diversas sustancias en formas isoméricas de las mismas.
- *Ligasas o sintetetasas*: Catalizan la formación de enlaces carbono-carbono, carbono-oxígeno, carbono-azufre y carbono-nitrógeno. La creación de estos enlaces necesita la concurrencia de sustancias con enlaces energéticos como el ATP.

e) Hormonas proteicas.

Químicamente, las hormonas se dividen en dos grandes grupos: las de naturaleza esteroídica y las de naturaleza proteica. Cada hormona tiene órganos efectores sobre los que ejerce su función.

Son hormonas proteicas las producidas por la glándula tiroides (tiroxina y triiodotironina, modificaciones químicas del aminoácido tirosina, que actúan sobre el metabolismo general y la calcitonina que reduce la calcemia). También es de naturaleza proteica la parathormona que interviene en el metabolismo mineral y las hormonas pancreáticas insulina y glucagón que intervienen en el metabolismo de los glúcidos y estructuralmente muy parecidas a la insulina son las somatomedinas, que amplifican en hueso, cartílago y otros órganos efectores los efectos de la hormona del crecimiento.

La hipófisis posterior produce dos hormonas peptídicas de gran importancia: la oxitocina (provoca el parto y la erección de leche) y la vasopresina que aumenta la presión arterial. El lóbulo anterior de la hipófisis segrega numerosas hormonas de naturaleza proteica como la hormona del crecimiento, prolactina, estimulante del tiroides, adrenocorticotrofa, luteinizante y estimulante del folículo. También son oligopéptidos los factores hipotalámicos de estimulación o inhibición de la hipófisis.

Por último, existen péptidos con acción hormonal (las denominadas hormonas locales) como pancreozimina y colecistoquinina que estimulan la secreción de jugo gástrico; bradiquinina, que estimula la contracción del músculo liso; angiotensina, que eleva la tensión arterial; y secretina que estimula la secreción de ácido clorhídrico y pepsina en el estómago.

f) Inmunoglobulinas y anticuerpos.

Están en la fracción de las globulinas y combaten las sustancias extrañas al organismo y los gérmenes.

La tabla 1 muestra la clasificación de las proteínas según su función.

1.3. Funciones de las Proteínas

Como se puede deducir de los numerosos tipos de proteínas que se han enumerado someramente, las funciones de las proteínas en el organismo son enormemente variadas. Resumiendo, se pueden agrupar en seis grandes grupos (Tabla 2.)

- a) PROTEÍNAS ESTRUCTURALES
 - Escleroproteínas: colágeno, queratina.
 - Proteínas musculares: actina y miosina.
 - Fibrinógeno y fibrina.
 - b) ALBÚMINAS, GLOBULINAS y OTRAS PROTEÍNAS SOLUBLES.
 - Proteínas del plasma sanguíneo.
 - Proteínas de la leche: lactoalbúmina, lactoglobulina, caseína.
 - Proteínas del huevo: ovoalbúmina.
 - e) PROTEÍNAS CONJUGADAS.
 - Mucoproteínas y glicoproteínas: lisozima.
 - Lipoproteínas y proteolípidos: proteínas de membrana y de transporte.
 - Metaloproteínas: ferredoxina, hemoglobina, mioglobina, citocromo C, hemocianina.
 - Cromoproteínas: hemoglobina.
 - Nucleoproteínas: virus, cromosomas, ribosomas.
 - Fosfoproteínas: caseína.
 - d) PROTEÍNAS CATALÍTICAS: ENZIMAS.
 - Oxidorreductasas.
 - Transferasas.
 - Hidrolasas.
 - Liasas.
 - Isomerasas.
 - Ligasas.
 - e) HORMONAS PROTEICAS.
 - Hormonas tiroideas y parathormona.
 - Hormonas pancreáticas: insulina y glucagón.
 - Somatomedinas.
 - Hormonas hipofisarias: del crecimiento, LH, TSH, prolactina, oxitocina, vasopresina.
 - Hormonas del hipotálamo.
 - Péptidos con actividad hormonal local: angiotensina, gastrina, colecistoquinina.
 - f) INMUNOGLOBULINAS Y ANTICUERPOS.
- a) FUNCIÓN ESTRUCTURAL.
 - Proteínas en huesos, músculos, cartílagos, piel, etc.

b) FUNCIÓN DE DEFENSA.

- Defensa pasiva: queratina, mucus de estómago, fibrina.
- Defensa activa indiscriminada: lisozima, enzimas bacteriolíticas de los glóbulos blancos.
- Defensa específica: anticuerpos.

e) MANTENIMIENTO DE LA HOMEOSTASIA.

- Mantenimiento del pH, presión oncótica, carga eléctrica.

d) FUNCIÓN MODULADORA.

- Enzimas.
- Hormonas.

e) FUNCIÓN DE TRANSPORTE Y RESERVA.

t) FUNCIONES DE RELACIÓN.

- Receptores en órganos sensoriales.
- Receptores en neuronas.
- Proteínas del músculo.

TABLA 2. funciones de las proteínas según Haurowitz (1.979).

a) Función estructural.

Las proteínas forman la base sobre la que se fijan las sales minerales en los huesos, y son el sostén del organismo. También forman los cartílagos, cubierta externa de la piel, exoesqueleto, etc.

b) Función de defensa.

El término “defensa” quizá sea muy general, pero muchas proteínas participan en el mantenimiento del organismo frente a agresiones externas. Así, por ejemplo, pueden considerarse proteínas que participan pasivamente en la defensa, la queratina de la piel, o el mucus que protege al aparato digestivo de la autodigestión.

También la fibrina sería una proteína de defensa al cerrar heridas e impedir tanto la pérdida de sangre como la entrada de gérmenes. Otras proteínas tienen un papel activo, pero indiscriminado en la defensa, como la lisozima, con actividad bacteriostática, o las enzimas bacteriolíticas liberadas por los glóbulos blancos. Son de grandísimo interés biológico los anticuerpos, que tienen intervención activa y sólo frente al antígeno que provocó su aparición.

e) Mantenimiento de la homeostasia.

Numerosas proteínas son capaces de mantener las condiciones óptimas para que tengan lugar los fenómenos vitales como son mantenimiento del pH, mantenimiento de la carga eléctrica, presión oncótica, etc.

d) Función moduladora.

Son proteínas moduladoras aquellas que encauzan un proceso vital en una dirección determinada. Son de dos tipos fundamentales:

- *Enzimas*: ubicuas (producidas y presentes en todas las células) y de acción muy específica, sobre un único compuesto y catalizando una sola reacción.
- *Hormonas*: se producen en un sólo órgano y no actúan sobre una reacción química, sino sobre un órgano o sistema siendo sus efectos mucho más amplios y menos específicos que los de las enzimas.

e) Función de transporte y de reserva.

Algunos grupos, sustancias, elementos o metabolitos no pueden ser transportados libremente por los efectos nocivos que acarrear. Si los lípidos se transportasen tal cual después de su absorción intestinal, provocarían embolias y hemólisis; para evitar estos efectos, se unen a proteínas formando lipoproteínas de transporte. La especial afinidad de la hemoglobina por el oxígeno permite que éste pueda ser transportado por todo el organismo y liberarse allí donde la concentración de oxígeno sea baja y pueda ser utilizado por las células.

En otras condiciones, ciertos elementos son protegidos por las proteínas y, así, se evita su excreción; un ejemplo es el hierro que se almacena como hemosiderina. La mioglobina muscular es capaz de almacenar una cierta cantidad de oxígeno para las necesidades musculares.

La proteína también constituye reserva de aminoácidos, pues parte de la proteína corporal puede ser degradada a aminoácidos que pueden ser reutilizados para la elaboración de nuevas proteínas. También puede constituir reserva energética, pues en casos de ayuno la gluconeogénesis a partir de aminoácidos aporta una energía necesaria para la supervivencia.

Por último, hay proteínas que fisiológicamente están diseñadas para ser fuente de aminoácidos y de energía, las que constituyen las reservas de vitelo y albúmina en el huevo, y de la misma manera se puede con-

siderar la proteína de la leche, es una reserva que realiza la especie para facilitar la viabilidad de la descendencia.

f) Funciones de relación.

Los receptores de órganos sensoriales recogen señales del exterior, y las respuestas son posibles gracias a la contracción muscular mediada por las proteínas contráctiles que permiten el movimiento.

2. METABOLISMO DEL NITRÓGENO EN EL RUMEN

2.1. Aportes de Nitrógeno

La mayor parte del N que llega al rumen proviene del alimento. Una pequeña parte del nitrógeno atmosférico puede ser fijado por microorganismos ruminales como *Methanobacterium ruminantium*, pero las cantidades de N que se asimilan son muy pequeñas, del orden de 0,7 gramos al día en ovejas (Li Pun y Satter, 1.975). Otra parte del N que llega al rumen es de origen endógeno, una parte en forma de proteínas (células descamadas, proteínas de la saliva, mucopolisacáridos), y otra parte en forma de NNP (urea que se forma en el hígado a partir del catabolismo de la proteína). Aunque la urea presente en la sangre puede atravesar el epitelio ruminal (Haupt, 1.959), las cantidades que pasan al rumen son también pequeñas (Chalmers y col., 1.976). La mayor parte de la urea endógena se elimina por la saliva. Los aportes de nitrógeno endógeno son considerables: Leng y Nolan (1.984) calculan en unos 50-100 gramos de nitrógeno al día la contribución del N endógeno, y Satter y Roffler (1.981) asumen que el 12% de la proteína bruta ingerida es reciclada hacia el rumen tras catabolizada.

El nitrógeno de la dieta está en su mayor parte constituido por proteína verdadera, aunque una fracción está formada por NNP donde se incluyen amidas, aminos, nitratos, aminoácidos, amoníaco, etc. El nitrato puede aparecer en cantidades importantes en pastos y forrajes inmaduros, y la urea o las sales amónicas se suelen suministrar como suplementos. Cuando se suministra gallinaza o cama de aves, el ácido úrico es la principal fuente de NNP. En muchos países es práctica habitual el tratamiento de forrajes con amoníaco para mejorar su digestibilidad y es una fuente de NNP para el animal.

La proteína verdadera que llega al rumen se divide en dos fracciones. Una de ellas es la proteína que se degrada en el rumen por acción de las enzimas y de las bacterias y constituye la proteína degradable en rumen

(PDR); mientras el resto resiste la degradación y alcanza el intestino y es la proteína no degradable en rumen (PNDR). Es conveniente explicar con detenimiento de degradabilidad de la proteína y los factores que intervienen en ello.

2.2. Degradabilidad de la Proteína

2.2.1. Concepto y Determinación

La degradación de la proteína en el rumen varía entre el 0 y el 100% según distintos de alimentos, y los valores son variables incluso para una misma proteína (Owens y Bergen, 1983). La degradabilidad es la proporción de una proteína que es degradada en el rumen. Es un parámetro difícil de medir y se han considerado métodos químicos que pueden estimar de un modo aproximado el valor de la degradabilidad. El más considerado comercialmente ha sido el de la solubilidad (Zinn y Owens, 1983b) en soluciones tamponadas. La solubilidad de una proteína no es un método totalmente adecuado para calcular la degradabilidad pues la solubilidad no es el único factor que influye sobre la degradabilidad aunque sea uno de los más importantes. Por ejemplo, la proteína del algodón tiene una solubilidad pequeña (7,2% según Wohlt y col., 1973), pero su degradabilidad es muy alta, del 60 al 80% (Satter, 1978). La correlación entre degradabilidad y solubilidad de una proteína es alta cuando se emplean raciones ricas en concentrados y la IMS es muy grande (Zinn y Owens, 1983a).

La determinación por métodos directos de la degradación de una proteína se realiza siguiendo dos conceptos básicos (Orskov y col., 1981). Se puede muestrear el contenido del abomaso o del duodeno y, gracias al empleo de marcadores de la síntesis de proteína (ácido diaminopimélico, isótopos radioactivos), es posible calcular el porcentaje de degradabilidad de la proteína que ha sido utilizada para la síntesis microbiana. Es un procedimiento que presenta lagunas porque hay que hacer correcciones para el nitrógeno de origen microbiano y el amoníaco que se puede absorber a través de las paredes del rumen. Por otra parte, los métodos de estimación de la proteína microbiana no son muy exactos.

Una segunda aproximación es la de la técnica de las bolsas de plástico que se suspenden en el rumen y se observa la desaparición de proteína a lo largo del tiempo. La desaparición de materia es muy intensa al principio (se supone que se corresponde con la proteína que se solubiliza en

el rumen) y más lenta posteriormente, que viene a corresponderse con la proteína no soluble que es digerida más lentamente por los microorganismos (Pichard y Van Soest, 1.977)

La técnica de las bolsas de plástico es útil y se obtiene resultados consistentes si se tienen en cuenta algunos factores (Mehrez y Orskov, 1.977): la superficie de bolsa debe ser grande (mayor de 50 cm² por gramo de materia seca de la muestra), longitud adecuada de la cuerda que una la bolsa con la cánula (25 cm en ovejas, 50 cm en vacuno), y tamaño de poro apropiado (entre 30 y 100 micras de diámetro) lo suficientemente grande para que no se acumule gas en el interior de la bolsa, que haría que flotase inhibiéndose la degradación, pero lo suficientemente pequeño para que las pérdidas de partículas sean mínimas). Por último, las condiciones del rumen deben permitir la máxima degradación de la muestra: no debe haber deficiencia de nutrientes.

Mediante la técnica de las bolsas de plástico se observa que el porcentaje de desaparición del N depende del tiempo y es exponencial pudiendo ser descrito mediante ecuaciones del siguiente tipo:

$$\% \text{ de degradabilidad} = a + b(1 - e^{-ct})$$

donde "a", "b" y "c" son constantes particulares de cada proteína y tipo de dieta (Orskov y McDonald, 1.979). En muchas ocasiones "a" puede ser interpretado como una medida de la fracción proteica que es muy soluble y "b" la fracción que es objeto de la degradación proteica (Orskov y col., 1.981).

El empleo de ovejas o novillos canulados es útil en un instituto de investigación pero no es un método que pueda ser utilizado en laboratorios. Se ha intentado correlacionar la degradabilidad de la proteína con su solubilidad en tampones, y la degradación bajo proteasa o en líquido ruminal pasteurizado. Combinando la solubilidad con el conocimiento de la ración empleada y el tratamiento (térmico o químico) que hayan sufrido los alimentos) se puede conocer aproximadamente la degradabilidad del alimento.

2.2.2. Factores que Influyen sobre la Degradabilidad de la Proteína

Los principales factores que influyen sobre la degradabilidad de la proteína son su solubilidad, la estructura de la proteína, la tasa de dilu-

ción ruminal (ligada a factores de la dieta y consumo de alimento) y al tratamiento con calor o con productos químicos que hayan sufrido las proteínas.

2.2.2.1. Solubilidad de la Proteína

La solubilidad es uno de los factores que más influyen en la degradabilidad de la proteína de un alimento. La razón principal es que la proteína disuelta presenta una mayor superficie y esa atacada mucho más fácilmente por las proteasas bacterianas.

La degradabilidad de una proteína suele ser mayor que su solubilidad. A finales de los años 70 se diseñaron dietas de baja solubilidad para vacas lecheras al comienzo de la lactación (Davis, 1.978; Majdoub y col., 1.978) con muy buenos resultados, pero el concepto de solubilidad ya ha quedado obsoleto y se emplean directamente valores de degradabilidad de los alimentos que en muchos casos ya están publicados en las tablas de alimentación.

Algunas proteínas presentan resistencia variable a la degradación que parece estar ligada a características estructurales de la propia proteína (Mahadevan y col., 1.980) como son los puentes disulfuro, restos polares en la proteína, carga química y posibilidad de ionización y número y posición de enlaces atacables por las proteasas microbianas.

2.2.2.2. Tasa de Dilución Rumial

La tasa de dilución ruminal se define como la proporción de contenido ruminal que abandona el rumen en una hora para avanzar en el tracto digestivo. Entre los numerosos factores que influyen sobre la tasa de dilución ruminal (de los que se hablará en el apartado de síntesis microbiana), el más importante es el nivel de alimentación. Como es lógico, cuanto más alta sea la tasa de dilución ruminal, menor será la degradación de la proteína ya que ésta permanece menos tiempo en el rumen.

Al aumentar la IMS aumenta la cantidad de proteína que no es degradada por las bacteria en vacas lecheras (Tamminga y col., 1.979) y en terneros (Zinn y Owens, 1983a). En este último trabajo se observó que por cada 10% de aumento en la IMS de una dieta rica en concentrados, el porcentaje de proteína vegetal que no era degradado aumentó un 6,5%.

2.2.2.3. Características de la Dieta

Las características de la dieta influyen sobre todos los parámetros ruminales (pH, tasa de dilución ruminal, degradación de glúcidos, síntesis de AGV), por lo que es lógico que una proteína se degrade con distinta rapidez y/o intensidad según la dieta sea más o menos rica en proteína o en concentrados. Se puede indicar que las dietas basadas en forrajes reducen la degradabilidad de los suplementos proteicos de origen vegetal, mientras no influyen en la degradabilidad de la proteína de la harina de pescado (Ganev y col., 1979; Mohammed y Smith, 1.977). Las diferencias parecen ser debidas a que los materiales celulósicos presentes en los forrajes pueden actuar como un factor protector de la proteína vegetal (Orskov y col., 1981).

2.2.2.4. Tratamiento Térmico de las Proteínas

El tratamiento térmico se emplea en la preparación de numerosos alimentos empleados en la nutrición de rumiantes y presenta numerosas ventajas nutritivas como la dextrinación de los almidones que facilita su digestión.

a) Forrajes.

Beever y col., (1.971) observaron un aumento del N que alcanzaba el intestino al desecar el forraje (trébol rojo) suministrado a ovejas. El mismo grupo de investigadores (Beever y col., 1976) observó que la degradabilidad de la proteína disminuyó del 72% en fresco al 42% tras desecar el ray-grass. En otro estudio (Beever y col., 1.974) observaron que la desecación en estufa del ray-grass aumentó en un 51 % la cantidad de aminoácidos que escapó del rumen en comparación con el forraje en fresco (aumentó la síntesis de proteína microbiana y se redujo la degradación de la proteína del alimento). La molienda y degradación de forrajes aumenta la proporción de proteína resistente a la degradación.

Los valores altos en PNDR de algunos alimentos forrajeros se deben a que en el proceso de fabricación han sido sometidos a altas temperaturas (alfalfa deshidratada, pulpa desecada, solubles de destilería o cebadilla desecada, gluten de maíz). La molienda y granulación de los forrajes también aumenta la proporción de proteína resistente a la degradación (Osbourn y col., 1.976).

b) Concentrados.

La harina de soja sufre calentamiento para eliminar la actividad de la ureasa, por ello, la degradabilidad del turtó de soja es menor que la de

otras tortas de oleaginosas. Según la temperatura del tratamiento de la soja, la porción no degradable es (NRC, 1.988):

Harina de soja cruda: 16%

Harina de soja 120 °C: 59%

Harina de soja 130 °C: 71%

Harina de soja 140 °C: 82%

Los valores extraordinariamente altos en PNDR de los suplementos proteicos de origen animal (harinas de pescado, sangre, carne o plumas) son debidos al tratamiento térmico que sufren estos alimentos.

El tratamiento térmico excesivo disminuye la digestibilidad de la proteína en el intestino por lo que en algunos casos puede ser que el animal absorba menos aminoácidos, aunque alcance el intestino una mayor cantidad de éstos que sin previo calentamiento (Beever y Schingoethe, 1.980). Otros autores, (Ahrar y Schigoethe, 1.979; Mielke y Schingoethe, 1.980) no han encontrado respuesta positiva al tratamiento térmico de la proteína que pudo ser debida a un nivel insuficiente de nitrógeno degradable o a que las vacas habían pasado el pico de lactación.

2.2.2.5. Tratamientos Químicos de la Proteína

Existen numerosos compuestos químicos que reducen la solubilidad y degradabilidad de la proteína en el rumen al establecer puentes o cadenas entre los péptidos de un modo reversible, que se mantienen mientras la proteína se halla en medio neutro o alcalino, pero que en el abomaso, cuando el pH baja a 3 o menos desaparecen y la proteína puede ser digerida en el intestino (Chalupa, 1.975). La sustancia que más se ha utilizado por razones económicas ha sido el formaldehído, aunque también se han ensayado otros aldehídos como acetaldehído y glutaraldehído (Beever y Thompson, 1.981). El formaldehído ha sido aplicado a proteínas animales (caseína), vegetales (harina de soja) y forrajes.

McRae y col. (1.972) observaron un mayor flujo de proteína al intestino en ovejas tras el tratamiento de la caseína con formaldehído (3 g de HCHO por 100 g de caseína) sin disminución en la digestibilidad de la proteína. Verite y Journet (1.977) observaron un aumento de los aminoácidos absorbidos tras el tratamiento de soja con formaldehído (0,6 g. de HCHO por 100 g. de proteína). Spears y col. (1.985) han observado que disminuía la degradabilidad de la proteína y aumentaba el flujo de aminoácidos al intestino tras el tratamiento de la soja con niveles crecientes de formaldehído. Beever y col. (1.976) midieron la solubilidad del for-

raje (ray-grass), que disminuyó del 72 al 46% con tratamiento térmico, y disminuyó al 36% tras tratamiento con HCHO. Beever y col. (1.977) han indicado que el tratamiento con HCHO del ensilado de hierba aumentó el flujo de aminoácidos al intestino y la cantidad de aminoácidos absorbidos.

La protección de la proteína es posible que tenga otros efectos positivos sobre el metabolismo ruminal. Para lograr el máximo crecimiento microbiano y la máxima síntesis proteica, los microorganismos deben disponer de todos los nutrientes necesarios y una excesiva proteolisis puede ser energéticamente poco eficaz para el rumiante, tanto en términos de fermentación ruminal como en los de la digestión de los productos resultantes de la fermentación ruminal. Beever y col. (1.977) han calculado que la formación de calor y de metano en el rumen de ovejas alimentadas con ensilado puede ser hasta cuatro veces menor que los valores calculados si el ensilado recibe un tratamiento térmico o con HCHO. Beever y col. (1.974, 1.976, 1.977) han indicado que la eficiencia de conversión de la energía fermentada en rumen y convertida en AGV es del 59% en dietas no tratadas y puede llegar al 78% cuando los alimentos reciben tratamiento térmico o químico. Una reducción en la degradabilidad de la proteína puede lograr que haya una mayor cantidad de energía disponible para el animal.

Sin embargo, un excesivo tratamiento (térmico o químico) de la proteína puede resultar negativo por reducción de la digestibilidad, que puede llegar a cero (Amos, 1.980). Por encima de 1 gramo de HCHO por 100 de proteína no parece que compense la reducción en la degradabilidad por reducirse en mayor medida la digestibilidad. Beever y Thompson (1.981) emplearon niveles de 1,2 y 3 gramos de HCHO por 100 gramos de PB en hierba desecada. A la dosis menor, aumentó un 33% la proteína que llegaba al intestino, pero con dosis mayores, las respuestas fueron negativas. Spears y col. (1.985) han estudiado la degradabilidad y utilización del nitrógeno al tratar soja con cantidades crecientes (0,3; 0,6; 0,9% de HCHO). El nivel de soja en la ración fue del 9,5% de la materia seca. La degradabilidad se redujo con todos los tratamientos, pero se observó disminución lineal de la digestibilidad de la proteína. Los autores recomiendan el nivel más bajo de HCHO (0,3%) ya que el exceso es perjudicial al disminuir la cantidad de N que es retenida. Spears y col. (1.980) han observado en terneros que al tratar la soja con HCHO (0,3 gramos por 100 gramos de soja) mejoró la utilización del nitrógeno, la ganancia

de peso vivo y la eficiencia de utilización del alimento sin que se resintiese la digestibilidad.

La utilización de proteína tratada con formaldehído no siempre ha dado resultados positivos (Wilson, 1.970; Clark y col., 1.974; Wachira y col., 1.974; Kellaway y col., 1.974). La falta de respuesta puede explicarse por un excesivo tratamiento de la proteína o por emplear vacas con bajos niveles productivos al haber pasado el pico de lactación.

2.2.2.6. Utilización de Aditivos

Se pueden manipular los procesos ruminales mediante la utilización de aditivos o sustancias químicas. En los últimos años se han logrado identificar numerosos compuestos que regulan la producción, degradación o utilización de aminoácidos, urea, metano, propionato y lactato en el fumen Clark y col., 1.980). Los compuestos de diariliodonio disminuyen la degradación de aminoácidos tanto *in vitro* como *in vivo* (Chalupa y col., 1.979a, b, c; Broderick y Balthrop, 1.979). Monensina reduce la degradación de la proteína (Whetstone y col., 1.980) y aumenta la cantidad de proteína vegetal que alcanza el intestino (Poos y col., 1.978), pero su utilidad se reduce al vacuno de cebo porque también aumenta la proporción de propionato con respecto al acetato en el rumen. El antibiótico avoparcina tiene un efecto similar sobre el rumen, pero a dosis bajas (100 mg. por cabeza y día) no reduce la concentración de MG en la leche.

2.2.3. Utilización de los Valores de Degradabilidad

Se van conociendo cada vez más los valores de degradabilidad para muchos alimentos. Anualmente, la revista *Feedstuffs* publica tablas de alimentación para rumiantes donde se indican los valores conocidos de degradabilidad de la mayor parte de los alimentos. Cuando se desconozca el valor de un alimento, se pueden aplicar valores generales aproximados. Beever y Thompson (1.981) han indicado que se pueden adoptar valores de indegradabilidad de 15, 25 y 25% para las proteínas de ensilados sin aditivos, las harinas de semillas sin tratar y la hierba fresca respectivamente, pero si el alimento ha sufrido tratamiento térmico, los valores aumentan. De todas formas, como se ha visto, la degradabilidad de un alimento es variable según muchos factores (dieta, nivel de alimentación) por lo que el posible error se diluye. Como tampoco están taxativamente delimitadas las necesidades en PDR y PNDR, y las recomendaciones

varían en un rango bastante amplio, se pueden asignar arbitrariamente valores aproximados sin que corramos riesgo de error grave en el racionamiento. La Tabla 3 muestra los valores de degradabilidad de alimentos para rumiantes.

ALIMENTO	INDEGRADABILIDAD (%)
FORRAJES	
Alfalfa deshidratada	59
Alfalfa ensilada	23
Alfalfa heno	28
Bagazo cervecería desecado	49
Cebada ensilada	27
Hierba ensilada	29
Maíz ensilado	31
Raygrass ensilado	22
Raygrass verde	41
Trébol blanco	33
Trébol rojo	31
Trébol rojo ensilado	38
CONCENTRADOS, CEREALES:	
Avena, grano	17
Cebada, grano	27
Cebada, grano en copos	67
Centeno, grano	19
Maíz copos vaporizados	68
Maíz grano	52
Maíz grano, copos en frío	58
Sorgo	54
Trigo	22
CONCENTRADOS PROTEICOS ANIMALES:	
Carne, harina	76
Carne y huesos, harina	49
Pescado, harina bien conservada	60
Pescado, harina normal	71
Sangre, harina	78
CONCENTRADOS, LEGUMINOSAS:	
Altramuz	35
Guisantes	22
Habas	16

CONCENTRADOS, TORTAS DE OLEAGINOSAS:	
Algodón	43
Cacahuet	25
Coco	63
Colza	22
Girasol	26
Linaza	55
Palmiste	66
Soja 44%PB	35
CONCENTRADOS, RAÍCES:	
Tapioca	35
Zanahorias	20
CONCENTRADOS, SUBPRODUCTOS:	
Granos de destilería desecados	54
Levadura	42
Maíz gluten, 22%PB	55
Maíz gluten, 60%PB	25
Remolacha pulpa melazada	35
Remolacha pulpa desecada	45
Salvado de trigo	21

TABLA 3. VALORES DE INDEGRADABILIDAD DE LA PROTEÍNA DE ALGUNOS ALIMENTOS. (NRC, 1.988).

2.3. Movimientos del Amoníaco en el Rumen

2.3.1. Origen del Amoníaco

El amoníaco presente en el rumen tiene fundamentalmente dos orígenes: de la proteína degradable de la dieta y del NNP. Otra parte proviene de los protozoos, ya que estos microorganismos excretan NH_3 como producto final de su metabolismo intermediario (Von Harmeyer, 1.971).

Los péptidos y aminoácidos que se originan en la hidrólisis de la proteína degradable pueden ser incorporados por los microorganismos, pero son muy rápidamente desaminados por peptidasas y desaminasas bacterianas por lo que sólo se recuperan en cantidades significativas cuando la proteína es degradada con enorme rapidez (Nuggent y Mangan, 1.981). Aunque los aminoácidos libres pueden ser absorbidos a través de las paredes del rumen, este mecanismo probablemente tenga muy poca impor-

tancia por el fenómeno de desaminación microbiana (Chand y col., 1.968; COOK y col., 1.965).

El NNP de distintos orígenes (urea endógena y del alimento, nitritos, ácido úrico, etc.) es degradado con gran rapidez a NH_3 por las ureasas y desaminasas de origen microbiano.

2.3.2. Destino del Amoníaco

El amoníaco que desaparece del rumen puede seguir tres caminos según Leng y Nolan (1.984): incorporación por las bacterias para la síntesis de proteína microbiana, absorción a través de la pared del rumen y escapar del rumen disuelto en el líquido ruminal que avanza por el tracto digestivo hacia el abomaso, pero esta última cantidad es relativamente pequeña y son los dos primeros fenómenos los verdaderamente interesantes; el primero porque significa un aporte considerable de proteína para el animal rumiante, y el segundo porque si el nivel de NH_3 excede de ciertos niveles puede originar cuadros tóxicos de gravedad (Visek, 1.984).

Para que pasen cantidades importantes de amoníaco a sangre a través de las paredes ruminales es necesario que el pH sea alto. Bartley y col., (1.976) han encontrado una correlación entre pH ruminal e intoxicación amónica, aunque la concentración de NH_3 era aproximadamente la misma en los animales que desarrollaron síntomas y los que no mostraron signos de intoxicación. La constante de disociación del amoníaco tiene un valor de 10-9,02 por lo que a pH neutro aproximadamente el 99% del amoníaco presente en disolución acuosa se encuentra en forma ionizada (Visek, 1.984). Sólo la forma no ionizada, que es liposoluble, pasará a sangre, pues el gradiente de concentración lo permite. Por lo tanto, una alta concentración de NH_3 en el rumen no indica necesariamente toxicidad ya que si el pH ruminal es bajo, la proporción de amoníaco no ionizado es casi nula y la absorción de NH_3 es mínima (Bartley y Deyoe, 1.981).

Los efectos metabólicos de la intoxicación por amoníaco han sido revisados por Austin (1.967), Payne y col., (1.970) y Visek (1.984) entre otros. La intoxicación aguda por amoníaco se caracteriza por la presentación de síntomas neurológicos que pueden conducir al coma y a la muerte. El NH_3 interfiere en el metabolismo energético, sobre todo en el cerebro que es el órgano más sensible a niveles altos de amoníaco en sangre (Visek, 1.984). El tamaño del ión NH_4^+ es muy similar al del K^+ hidratado, y al menos "in vitro", ejerce con frecuencia los mismos efectos que el ión po-

tásico (Buttery, 1.981). La inyección intravenosa del ión potasio produce parálisis muscular, coma y muerte, como en el coma amónico.

Se ha prestado menor atención a la intoxicación subclínica, pero al menos dos efectos parecen claros en esta circunstancia: alteraciones en la reproducción y problemas patológicos. En ganado vacuno, se ha observado que la fertilidad está inversamente correlacionada con la ingestión de proteína: al aumentar el nivel de proteína de la ración aumenta el intervalo parto-concepción y el número de inseminaciones por gestación (Jordan y Swanson, 1.979a), con niveles menores de progesterona (Jordan y Swanson, 1.979b). Folman y col. (1981) han indicado peores rendimientos reproductivos al aumentar el porcentaje de proteína bruta en la ración. Visek (1.984) ha revisado los efectos del NH_3 sobre diversos sistemas hormonales y sugiere que las alteraciones reproductivas pueden ser debidas a intoxicación subclínica por amoníaco. Como apoyo a esta teoría, se debe indicar que cuando se emplean raciones de alto contenido en PNDR, la fertilidad aumenta en los rebaños de vacas lecheras (Kauffmann y Hagemester, 1.976).

En animales monogástricos se ha observado que las infecciones secundarias del tracto respiratorio causadas por bacterias, virus y micoplasmas son más graves cuando la concentración ambiental de NH_3 es elevada (Anderson y col., 1.964) que puede ser debida a la acción irritante del amoníaco sobre las mucosas o a la inmunodepresión que produce (Visek, 1.984).

Generalmente, cuando se emplea NNP en raciones de un alto contenido proteico (por encima del 13% de proteína bruta sobre materia seca), los resultados productivos son peores que cuando se emplean similares niveles de proteína verdadera (Satter y Roffler, 1.975). Es posible que los peores resultados se deban en parte a intoxicación subclínica por amoníaco.

2.4. Síntesis de Proteína Microbiana

2.4.1. Estimación de la Síntesis de Proteína Microbiana

En la mayor parte de las raciones para el ganado vacuno, más del 60% de la proteína que alcanza el intestino es de origen microbiano. Para la síntesis de proteína microbiana, las bacterias necesitan los sustratos apropiados, fundamentalmente, nitrógeno y energía. Para lograr una máxima síntesis de proteína microbiana es necesario el concurso de otras sustancias cuya escasez o deficiencia marginal conduce a disminución de proteína: azufre, fósforo, ácidos grasos de cadena ramificada y aminoácidos o péptidos ya formados (Stern, 1.982).

La estimación de la cantidad de proteína microbiana sintetizada es difícil y compleja. Normalmente se debe recurrir al empleo de marcadores microbianos, sustancias que deben cumplir ciertas características: no estar presentes en la dieta ni en las secreciones endógenas que abandonan el fumen; ser fácilmente identificables como productos microbianos y aparecer en una proporción constante con respecto al nitrógeno microbiano bajo condiciones específicas. Al comparar distintos marcadores microbianos (pues los resultados no siempre son consistentes) se obtiene una estimación de la síntesis de proteína microbiana.

Los marcadores microbianos más habituales son:

- Ácido diaminopimélico. Es un aminoácido específico de las paredes celulares de las bacterias (Hogan y Weston, 1.970).
- Ácido aminoetilfosfórico. Se encuentra en la fracción lipídica de los protozoos, y con esta sustancia se puede conocer la proteína de los protozoos (Ibrahim e Ingalls, 1.972). Mediante los anteriores marcadores se puede conocer la proteína bacteriana y la proteína de los protozoos; son métodos relativamente sencillos aunque no muy exactos.
- Ácido ribonucleico. Smith y McAllan (1.974) han utilizado el ARN como marcador microbiano, pues se cree que todo el ARN de los alimentos y de las secreciones endógenas es degradado en el rumen, sin embargo, parte del ARN de la dieta puede no ser destruido si el alimento ha sufrido tratamiento térmico (Buttery, 1.981). El procedimiento de análisis del ARN es bastante complicado y los resultados son muy variables.
- Trifosfato de adenosina. Forsberg y Lamb (1.977) han estudiado la utilización del ATP como marcador microbiano basándose en tres hechos:
 - (a) El ATP se encuentra en todas las células vivas, pero se destruye rápidamente en las células muertas.
 - (b) La proporción ATP/N es muy constante para todos los microorganismos.
 - (c) La extracción y análisis del ATP es relativamente sencilla y barata. Sin embargo, la grandísima labilidad del ATP, sobre todo en las condiciones ácidas del duodeno, dificultan la utilización del ATP como marcador.

- Isótopos radioactivos. Los más utilizados son ^{35}S , ^{15}N y ^{32}P (Har-meyer y col., 1.976). Se basa en la introducción de compuestos inorgánicos (amoníaco, sulfatos, fosfatos marcados y analizar con posterioridad el contenido intestinal. Es un método muy exacto, pero bastante caro (sobre todo cuando se hacen ensayos "in vivo") y relativamente peligroso.
- D-alanina. Es un aminoácido presente en la pared celular de casi todas las bacterias y en una proporción muy constante. Existe un método enzimático para la determinación de D-alanina (Garret y col., 1.982).

2.4.2. Nutrientes Necesarios para la Síntesis de Proteína Microbiana

Las bacterias utilizan nutrientes para su crecimiento. Los protozoos ingieren bacterias, y tanto unas como otros se reproducen activamente y mueren en grandes cantidades. Una considerable cantidad de bacterias y protozoos pasan con el contenido ruminal hacia el abomaso, y son digeridas por el rumiante. La proteína microbiana es la constituyente de las células microbianas que es utilizada por el animal.

Los principales nutrientes necesarios para el crecimiento de las bacterias en el rumen son nitrógeno y energía, aunque se sabe que hay otros factores de crecimiento de las bacterias como los ácidos grasos ramificados, azufre, etc.

2.4.2.1 Nitrógeno

El crecimiento bacteriano y, por lo tanto la síntesis de proteína bacteriana, requiere un aporte adecuado de nitrógeno. Si el nivel de N es insuficiente, se producen fermentaciones que no rinden ATP utilizable y no se sintetizará la proteína suficiente, amén de suponer un despilfarro energético (Stern, 1982). Si el nivel de N es excesivo, existe riesgo de alcalinización del contenido ruminal, con riesgo de intoxicación. La energía puede entonces ser factor limitante del crecimiento microbiano. Así pues, para que la eficiencia en la síntesis proteica sea máxima, en el rumen debe haber equilibrio entre el N y la energía disponible.

El amoníaco es la principal fuente de N para las bacterias. El NH_3 del rumen se transforma en proteína microbiana con una eficiencia que varía entre el 40 y el 100% (Pilgrim y col., 1970; Mathison y Milligan, 1971; Al Rabbat y col., 1971; Nolan y col., 1976; Al Rabbat y Heanley, 1978). La

mayoría de las bacterias ruminales pueden utilizar el amoníaco para su crecimiento. El NH_3 es fijado por las bacteria a través de su incorporación al ácido glutámico, para lo que existen dos enzimas capaces de fijar el NH_3 : glutamato dehidrogenasa y glutamato sintetasa. La primera es una enzima de baja afinidad por el amoníaco, mientras la glutamato sintetasa es muy selectiva y con una actividad muy intensa y, además, su síntesis es inducida por concentraciones bajas de amoníaco. A bajas concentraciones de NH_3 glutamato sintetasa fija el NH_3 con gasto de ATP, pero si la concentración de amoníaco es alta, glutamato dehidrogenasa fija el amoníaco sin gasto energético.

El máximo crecimiento microbiano tiene lugar con concentraciones de NH_3 variables entre 50 y 80 Mg. de nitrógeno amónico por litro (Allison, 1970; Orskor, 1970; Pisulewski y col., 1981). Otros autores han encontrado que el crecimiento máximo se producía con concentraciones mucho más altas de nitrógeno amónico: 240 Mg. por litro (Miller, 1973) ó 290 Mg. por litro (Mehrez y col., 1977). Utilizando cultivos puros se ha observado que las bacterias ruminales tienen gran afinidad por el amoníaco y son capaces de lograr el 95% del crecimiento máximo con concentraciones mucho más bajas, del orden de 20 Mg. de nitrógeno amónico por litro (Schaefer y col., 1980). Los estudios de Satter y Slyter (1974) demuestran que no son necesarios niveles altos de N amónico; trabajando con dietas diferentes observaron que al añadir NNP, el amoníaco se empezaba a acumular desde concentraciones de aproximadamente 20-30 Mg. de nitrógeno amónico por litro, sin que aportes suplementarios de N lograsen acelerar el crecimiento microbiano. Basándose en estos datos, Satter y Roffler (1975) indican que la concentración óptima de NH_3 ruminal debe ser de 50 Mg. por litro: valor lo suficientemente grande para que las bacterias no carezcan de N para su crecimiento, y muy lejos de los límites de riesgo de intoxicación. Estos investigadores creen que cuando se alcanzan valores muy altos de NH_3 en el rumen es porque los microorganismos no son capaces de utilizar todo el que se produce y, en consecuencia, comienza a acumularse. Desde un punto de vista teórico, si el amoníaco y la energía estuvieran perfectamente equilibrados, el NH_3 podría ser utilizado a medida que se forma y la concentración de amoníaco en el rumen permanecería muy baja, pero sería capaz de sostener un alto nivel de síntesis proteica.

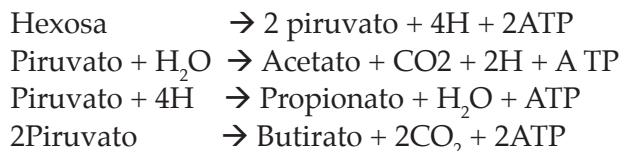
Aunque las bacterias pueden utilizar NH_3 como única fuente de N para su crecimiento, también son capaces de utilizar péptidos y aminoácidos preformados que parecen actuar como factores de crecimiento mi-

crobianos (Maeng y col., 1976). Los aminoácidos pueden aportar esqueletos carbonados ramificados. Oltjen y col., (1971) han observado estímulo en el crecimiento bacteriano al añadir mediante infusión intrarruminal ácidos grasos de cadena ramificada aumentando la síntesis de proteína microbiana. También la metionina es un factor de crecimiento para los microorganismos del rumen (Wolter, 1981).

2.4.2.2. Energía

Los microorganismos emplean energía para cubrir sus necesidades de mantenimiento y de crecimiento. Para lograr un máximo crecimiento y una síntesis de proteína máxima los microbios necesitan ATP. Obtienen ATP a partir de las hexosas y rinden como productos de su metabolismo piruvato, lactato, CO_2 , ácidos grasos volátiles y metano. La glucosa es el principal azúcar que deriva del almidón y de la celulosa; las hemicelulosas y pentosanas dan lugar a pentosas que son transformadas en hexosas antes de ser fermentadas, por lo que se puede considerar que son las hexosas el principal y casi único compuesto que utilizan las bacterias para obtener energía (Buttery, 1981).

Una aproximación simplificada de este proceso sería (Leng, 1970):



Esta aproximación sugiere que la fermentación de las hexosas hacia unos u otros AGV es equivalente desde el punto de vista de la producción de ATP, pero considerando con todo detalle el proceso de fermentación de las hexosas hacia AGV, Harrison y col., (1973) han indicado que la producción de acetato rinde 4,25 moles de ATP por mol de hexosa fermentado, la producción de propionato, 4 moles y la producción de butirato, 3 moles de ATP por mol de hexosa. En las condiciones anaeróbicas del rumen, el exceso de potencial reductor (H) no puede combinarse con oxígeno para formar agua, y los productos de la fermentación son reducidos para producir propionato (que es utilizado por el animal) o para producir metano que es una pérdida de energía porque el rumiante no lo puede utilizar.

La energía disponible para la síntesis de proteína microbiana suele indicarse en términos de materia orgánica fermentable (Hagemeister y

col., 1.981). Las grasas no son utilizadas por las bacterias, y la proteína (los estudios se han realizado con caseína) rinde aproximadamente la mitad de energía que los glúcidos (Demeyer y Van Nevel, 1.980) en base a materia orgánica fermentable (MOF). En raciones de vacas lecheras, la proteína viene a suponer un 14-20% de la materia orgánica, y descontando la PNDR se observa que la contribución de la proteína al suministro de energía para las bacterias ruminales es pequeña, del orden del 10% o menos (Hagemeister y col., 1.981).

Se puede calcular que en raciones normales (no desequilibradas hacia forrajes o hacia concentrados) que se vienen a producir del orden de 20-22 gramos de proteína microbiana por cada 100 gramos de MOF. Hagemeister y col. (1981) han revisado bibliografía sobre 75 ensayos utilizando vacas lecheras canuladas e indican que como promedio se producen 22,1 gramos de proteína bacteriana por cada 100 gramos de MOF. Rohr y col. (1.979), también en vacas lecheras, han registrado valores más altos: 24,7 a 31,3 gramos de proteína microbiana por cada 100 gramos de MOF. Tamminga y col. (1979) han encontrado un valor promedio de 22 gramos de proteína por 100 gramos de MOF. Por su parte, Burroughs y col. (1.975a,b) unos 25 gramos de proteína por 100 gramos de MOF. Y por fin, Chalupa (1.980) es quien indica los valores más bajos, 15 g. de proteína microbiana sintetizada por cada 100 g. de materia orgánica fermentable.

Los ensayos realizados con ovejas demuestran que ésta es más eficiente que la vaca en la síntesis de proteína microbiana a partir de la MOF.

Por último, cabe reseñar el efecto postulado por Broome (1.968) de la frecuencia de la alimentación: una presentación frecuente de los alimentos, o la disposición *ad libitum* de la ración permite un mayor estabilidad de las condiciones medioambientales del rumen, lo que evita cambios de las poblaciones microbianas para adaptarse a los cambios con lo que mejora la eficiencia de la síntesis de proteína microbiana. Tamminga (citado por Hagemeister y col. 1.981) ha llegado a indicar un aumento del 20-30% en la síntesis de proteína que alcanza el intestino al incrementar la frecuencia en la alimentación.

2.4.2.3. Relación Proteína-Energía

La concentración de nitrógeno amónico en el rumen está en función de la proteína ingerida y la energía según la ecuación de Satter y Roffler, (1.975):

$$\text{N amónico (Mg./100 ML.)} = 38,73 - 3,04\text{PB} - 0,171\text{PB}^2 - 0,49\text{TDN} + 0,0023\text{TDN}^2.$$

Donde:

PB: % de proteína bruta.

TDN: % de TDN en materia seca de la ración.

En consecuencia, al aumentar la proteína bruta de la ración, se alcanzan los 5 Mg./100 ML. (que era el nivel óptimo de nitrógeno amónico) más rápidamente si la ración tiene baja concentración energética, porque los microorganismos están limitados por la energía para utilizar el NH_3 que se produce. Las combinaciones de energía y proteína en la dieta dan lugar a tres opciones o posibilidades:

- a) Combinación de energía y proteína en la que la adición de NNP puede ser utilizado eficientemente.
- b) Combinación en la que el NNP es utilizado sólo parcialmente.
- c) Combinación en la que el NNP no es utilizado.

Como puede verse en la tabla 4 y en la figura 2, el nitrógeno no proteico es bien utilizado con raciones pobres en proteína y ricas en fibra; cuando la concentración de N utilizado en el rumen es menor de 2 Mg./100 ML., la utilización del NNP supera el 90%. Cuando la concentración de N utilizado en el rumen está entre 2 y 5 Mg./100 ML., la utilización del NNP varía entre el 0 y el 90%. Con 5 ó más Mg./100 ML., la utilización del NNP es nula.

Por ello, con raciones muy pobres en energía (menos del 60% de TDN sobre sustancia seca) es poco probable que sea de utilidad la adición de NNP. Tales raciones, formadas por subproductos, contienen más del 8% de PB sobre MS. Tan sólo en el caso de raciones a base de paja de cereal, corozo de maíz y melaza (en las que el contenido de PB sería muy bajo) podría tener interés la suplementación de NNP hasta alcanzar un nivel de PB del 8-9% de PB y siempre que el contenido en TDN de la ración supere el 60%.

% DE PB EN LA MS DE LA RACIÓN	% DE TDN EN LA MS DE LA RACIÓN								% DE UTILIZACIÓN DEL NNP
	50	55	60	65	70	75	80	85	
8	6,8	5,7	4,6	3,6	2,8	2,1	1,5	1,0	> 90
9	5,8	5,5	4,5	3,5	2,7	2,0	1,4	0,9	
10	6,9	5,8	4,7	3,7	2,9	2,2	1,6	1,1	
11	7,5	6,3	5,2	4,3	3,4	2,7	2,1	1,756	
12	8,4	7,2	6,1	5,2	4,3	3,6	3,0	2,6	0-90
13	8,4	8,5	7,4	6,4	5,6	4,9	4,3	3,8	
14	11,2	10,0	8,9	8,0	7,1	6,4	5,8	5,4	0
15	13,1	12,0	10,8	10,0	9,0	8,4	7,8	7,3	
16	15,4	14,2	13,1	12,2	11,3	10,6	10,0	9,5	
17	18,0	16,8	15,7	14,8	13,9	13,2	12,6	12,1	
18	20,9	19,8	18,6	17,7	16,9	16,2	15,6	15,1	
19	24,2	23,0	21,9	21,0	20,2	19,5	18,9	18,4	
20	27,8	26,7	25,6	24,6	23,8	23,1	22,5	22,0	

TABLA 3. Influencia de la composición de la relación sobre la concentración media de nitrógeno amónico en el rumen y la utilización del nitrógeno no proteico. (Satter y Roffler, 1.975).

Con raciones ricas en energía (a base de cereales, pulpas, melazas) la inclusión de urea o NNP para llegar a niveles del 13-13,5% de PB es de utilidad y la utilización del NNP es del 90% ó más.

Cuando los ingredientes de la ración aporten un 13% ó más de PB, la adición de urea no es de utilidad pues no se aprovecha el NNP.

2.4.2.4. Azufre

La síntesis de metionina y cistina por los microorganismos del rumen necesita azufre. Una insuficiente ingestión de azufre puede ser limitante del crecimiento microbiano. Hume y Bird (1970) y Bird Y Hume (1971) han indicado que la adición de azufre a dietas deficientes en S pero adecuadas en N mejoran la ganancia de peso, producción de leche, y retención de nitrógeno. En el ensayo de Hume y Bird (1.970), con aporte insuficiente de S (0,6 gramos al día en ovejas con una relación N/S de 34,3), se producían diariamente 82 gramos de proteína microbiana; al aumentar la ingestión a 2 gramos diarios (relación N/S = 10,9) la síntesis de proteína microbiana fue de 94 gramos al día sin lograr mejoras adicionales al aumentar la can-

tividad de S en la dieta. Basándose en estos datos, sugieren que la relación N/S debe ser aproximadamente igual a 10, valor que también recomiendan según experimentos propios Bouchard y Conrad (1.973) y Chalupa y col. (1.973).

2.4.3. Otros Factores que Influyen sobre la Síntesis de Proteína Microbiana

2.4.3.1 Tipo de Hidrato de Carbono

Oldham y col. (1.979) han observado que cuando la relación Forraje: Concentrado era de 40:60 y el cereal maíz, la síntesis de proteína microbiana en vacas alcanzó un valor de 13,7 gramos de proteína por cada 100 gramos de MOF. Cuando la relación F : C era 10:90, la síntesis de proteína microbiana fue de 8,3 g./100 g. MOF. Con las mismas raciones y con cebada como cereal predominante, los valores fueron de 21,2 y de 19,2 gramos/100 gramos de MOF, respectivamente. Los valores más bajos que se obtuvieron con el maíz al compararlo con la cebada se deben casi con toda seguridad a que el almidón del maíz es muy poco degradable en el rumen y las bacterias pueden haber estado restringidas en energía.

Los hidratos de carbono que fermentan rápidamente en el rumen, como los almidones y los azúcares, son más eficaces como promotores de la síntesis de proteína microbiana que aquellos hidratos de carbono cuya degradación es lenta (Offer y col., 1.978; Stern y col., 1.978; Nikolic y col., 1.981). Cuando se añade almidón a dietas muy ricas en celulosa o si se sustituye parcialmente esta por almidón, aumenta la utilización del nitrógeno y disminuye la digestibilidad de la fibra (Slyter y col. 1.971; Offer y col. 1.978; Stern y col. 1.978). La eficiencia del almidón está relacionada con la capacidad de liberar rápidamente energía para que la puedan utilizar las bacterias para su crecimiento.

Las raciones muy extremas, con demasiado forraje o demasiado concentrado, son utilizadas menos eficazmente y sustentan una menor síntesis de proteína microbiana. Como indican Hagemester y col. (1.981), una ración excesivamente fibrosa es degradada lentamente, la tasa de crecimiento microbiano es lenta, y las necesidades de mantenimiento de las bacterias son altas. Si la cantidad de concentrados es excesiva, se producen dos fenómenos que reducen la síntesis de proteína microbiana: una disminución del pH que modifica la población bacteriana y condiciones que favorecen la preponderancia de los protozoos. Los protozoos engloban almidón e ingieren bacterias, por lo que la síntesis de proteína micro-

biana es menor. En Alemania se emplea la relación ELN/FB (Extractivos libres de nitrógeno / Fibra bruta) que da una medida del equilibrio forraje: concentrado. Se observa que la síntesis proteica es máxima cuando la relación ELN/FB está entre 2.3 y 3.3, pero disminuye en los valores más extremos (Hagemeister y col., 1.981; figura 4). Cuando la relación ELN/FB está entre esos niveles, la dieta no deprime el contenido en grasa de la leche ni induce fermentación láctica.

2.4.2.2. Tasa de Dilución Ruminal

Numerosos estudios *in vitro* han demostrado que existe una correlación positiva entre la tasa de crecimiento microbiano y la tasa de dilución ruminal (Hobson, 1965; Hobson y Summers, 1.967; Isaacson y col., 1.975). Un tiempo excesivo de permanencia en cultivo trae como consecuencia que utilicen el sustrato para mantenimiento y la eficiencia de síntesis proteica se reduce. Con el tiempo se alcanza un equilibrio y mueren tantas bacterias como se reproducen; al permanecer constante el número de bacterias, la síntesis de proteína microbiana es nula.

En los estudios *in vivo* se observa que aumenta la síntesis de proteína microbiana cuando aumenta la tasa horaria de dilución ruminal (definida como la proporción del contenido ruminal que pasa al abomaso en una hora).

Cole y col. (1.976) han observado un aumento de la tasa de dilución ruminal (de 0,03 a 0,05 por hora), junto con aumento en la síntesis de proteína microbiana (7,5 a 11,8 gramos de proteína microbiana por 100 g. de MO digestible) cuando se cambió una dieta de terneros que contenía el 100% de concentrados por otra con el 14% de forraje. La infusión intrarruminal de saliva artificial en ovejas aumentó la tasa de dilución de 0,03 a 0,08 por hora (Harrison y col., 1.976) y al mismo tiempo se observó un aumento de aminoácidos sintetizados por mol de hexosa fermentado desde 25,4 a 29,8. Las temperaturas frías aumentan la tasa de dilución en ovejas. Kennedy y col. (1.976) han medido la tasa de dilución a 18-21 grados que resultó ser de 0,10 por hora; a 0 grados era de 0,14 por hora. Al disminuir la temperatura ambiente aumentó la síntesis de proteína microbiana desde 29,9 a 33,7 gramos de proteína por 100 gramos de materia orgánica digestible. En un estudio posterior (Kennedy y Milligan, 1.978) obtuvieron resultados muy parecidos: al reducir la temperatura de 22-25 grados a 2-5 grados, la tasa de dilución aumentó (0,07 a 0,12 por hora) y

también la síntesis de proteína microbiana (22,4 a 31,8 gramos por 100 g de MOD). Parecidos resultados han sido obtenidos por Hogan y Weston (1.970) quienes notaron que al aumentar en ovejas la tasa de dilución ruminal de 0,06 a 0,10 por hora, la síntesis de proteína microbiana pasó de 19,5 a 23,1 g./100 g. MOD. EL factor MOFIMOD oscila entre 0,52 y 0,68 (Waldo y Glenn, 1.984).

Kennedy y col. (1.976) indican varios factores que pueden explicar la razón de que a mayor tasa de dilución ruminal se registre mayor crecimiento microbiano y síntesis de proteína; menor auto lisis de las bacterias, menor ingestión de bacterias por protozoos, y cambios en la población bacteriana inducidos por cambios en el sustrato que eliminan las especies de crecimiento más lento.

2.4.4. *Papel de los Protozoos en el Rumen*

Se sabe desde el siglo pasado de la existencia de protozoos en el rumen, dado que son de mayor tamaño y pueden verse fácilmente con el microscopio. Los protozoos que se encuentran en el rumen son principalmente especies ciliadas, aunque también se pueden encontrar flagelados, sobre todo en animales jóvenes (antes de que se establezca la población de ciliados) o en animales que han perdido los ciliados por una u otra razón (Church, 1.974). El cultivo de protozoos es muy difícil, se puede lograr crecimiento añadiendo líquido ruminal al medio, pero casi todas las especies necesitan la presencia de bacterias, que posiblemente aporten enzimas u otros compuestos necesarios para su supervivencia (Church, 1.974). Debido a la dificultad de su cultivo, se conoce muy poco sobre su nutrición.

Algunas especies de los géneros *Holotrichia* e *Isotrichia* proliferan cuando la dieta contiene grandes cantidades de glúcidos solubles y los ingieren hasta que estallan porque carecen de mecanismos de control de la ingestión. Los entodinomorfos (género *Entodinia*) utilizan muy pocos carbohidratos solubles (si es que utilizan alguno), pero engloban partículas de almidón y son los predominantes cuando la dieta contiene gran cantidad de almidón. En cuanto a la proteína, se sabe que los protozoos engloban partículas de la dieta como cloroplastos (Leng y Nolan, 1.984) y obtienen proteína mediante la depredación de bacterias. *In vitro* se ha observado que un protozoo puede llegar a ingerir hasta 12.000 bacterias en una hora, pero probablemente en las condiciones normales del rumen la

tasa de depredación sea menor, aunque estudios de cinética del nitrógeno muestran que hasta un 50% de las bacterias pueden llegar a ser ingeridas por los protozoos.

El establecimiento de la población protozoaria en el animal joven requiere el contacto con animales más viejos y provistos de protozoos (Bryant y col., 1.958; Eadie, 1.962; Borhami y col., 1.967). El aislamiento de rumiantes recién nacidos de otros animales más viejos impide el desarrollo de ciliados, aunque algunas especies de flagelados no parecen requerir el contacto (Eardie, 1.962) siempre que el pH del rumen sea mayor de 6,5. Si se juntan animales desprovistos de protozoos con otros más viejos, o si se procede a realizar un aporte artificial de contenido ruminal, se desarrolla una población normal de protozoos en el plazo de una a seis semanas (Church, 1.974).

La población de microorganismos del rumen es muy variable en el tiempo y según las zonas geográficas. La población también varía a lo largo del día (por ser muy dependiente del aporte de alimentos: después de un período de ayuno de varias horas el número de bacterias se reduce muy considerablemente), y a lo largo del año (por las variaciones en la composición de la ración).

Los protozoos del rumen son bastante lábiles. Coleman y col. (1.980) observaron introduciendo en el rumen protozoos marcados que aproximadamente los dos tercios del total son degradados en el rumen, y el tercio restante abandona el rumen y pasa al intestino donde son digeridos.

El efecto de los protozoos sobre el animal se ha considerado negativo por Leng y Nolan (1.984) quienes consideran que al ingerir bacterias reducen la cantidad de proteína disponible para el animal; además el mantenimiento de una población de protozoos supone un gasto de energía y de proteína por lo que la utilización de estos nutrientes es menos eficiente. Hay circunstancias en que pueden ser beneficiosos para el animal (Russell, 1.984) porque al englobar partículas de almidón, moderan la fermentación ruminal, disminuye la producción de propionato y la relación C2:C3 se mantiene más alta. Estos efectos son muy positivos en ganado vacuno penpenso al síndrome de caída de la grasa.

Las observaciones llevadas a cabo sobre terneros aislados libres de ciliados (Pouden y Hibbs, 1.950; Bryant y Small, 1.960) indican que los animales crecen normalmente, pero el pelo es poco lustroso y presentan un aspecto barrigón. En corderos, Abou Akkada y EL Shazly (1.964) mantu-

vieron los animales aislados hasta la quinta semana de edad, y entonces se dividió el lote en dos grupos; a un grupo se le inoculó líquido ruminal y desarrolló una población normal de protozoos. Desde el día 50 al 158 de edad, los corderos con protozoos ganaron más peso y la retuvieron más nitrógeno (51 % frente al 40% en los corderos no inoculados). Los corderos con protozoos mostraron valores de digestibilidad para la celulosa, extracto etéreo, proteína bruta y materia seca mayores que los corderos no inoculados. Christiansen y col. (1.965) inocularon corderos con protozoos provenientes de corderos viejos y observaron que los inoculados ganaron peso más rápida y eficientemente que los controles no inoculados.

En otros ensayos, sin embargo, se han observado respuestas positivas tras la eliminación de la población de protozoos, de los cuales los más significativos son:

- Lindsay y Hogan (1.972) observaron que la proteína microbiana que llegaba al intestino, después de eliminar los protozoos, aumentó un 16% en ovejas alimentadas a base de heno de alfalfa.
- Rowe y col. (1.980) han indicado que tras eliminar los protozoos en ovejas alimentadas con una ración heno / concentrados a partes iguales, el flujo total de nitrógeno al intestino aumentó un 16%.
- Knight y col. (1.978) atribuyeron a la eliminación de la fauna un 70% de aumento en el nitrógeno que alcanzaba el intestino de ovejas alimentadas con una ración a base de heno y concentrado (2:1) suplementada con aceite de linaza o de coco.
- Bird y Leng (1.978) observaron aumento en la ganancia de peso de terneros alimentados con una ración baja en proteína y rica en concentrados tras eliminar los protozoos.
- Bird col. (1.979) indican un claro aumento en la producción de lana tras la defaunación. La producción de lana es dependiente del aporte de aminoácidos sulfurados y el aumento de lana indica con claridad un aumento de los aminoácidos disponibles en el duodeno, probablemente de origen microbiano.

Las respuestas, positivas o negativas, pueden depender de la dieta y del estado fisiológico de los animales pero parece lógico pensar que haya más cantidad de proteína disponible para el animal si se elimina la competencia de los protozoos, pero es también probable que el mantenimiento de animales defaunados cree algún tipo de estrés nutritivo en los rumiantes.

3. NECESIDADES PROTEICAS DE LA VACA LECHERA

Las necesidades de la vaca lechera se han venido expresando en proteína bruta o en proteína digestible. Expresar la proteína como porcentaje de la dieta no es correcto, porque no se tiene en cuenta la IMS. Es más correcto expresar las necesidades en gramos por animal y día. Aun así, no se considera la cantidad de aminoácidos disponibles para mantenimiento y producción. Los aminoácidos absorbibles proceden de la proteína microbiana y de la proteína de los alimentos que pasan al intestino para ser allí digerida. Por ello, las necesidades proteicas tienden a expresarse como las cantidades de proteína necesarias para suministrar una adecuada cantidad de cada aminoácido para las necesidades de la vaca lechera (Clark y col., 1.980).

Para el cálculo de las necesidades de proteína se han empleado diversos sistemas, aunque cada vez más se tiende a utilizar sistemas basados en proteína neta o metabolizable. La mayoría de los métodos toman en cuenta las siguientes consideraciones (Chalupa, 1.980):

- (a) Necesidades de proteína absorbible para mantenimiento y producción.
- (b) Cantidad de proteína del alimento que escapa a la degradación ruminal y pasa al intestino delgado.
- (c) Cantidad de proteína microbiana sintetizada en el rumen.
- (d) Cantidad de proteína microbiana comparada con las necesidades de la vaca para mantenimiento y producción.

Según Orskov y Robinson (1.981), estos conceptos nuevos recogen la necesidad de considerar de forma separada las necesidades de la vaca y las necesidades de los microorganismos ruminales por dos importantes razones:

- (1) Si no se aporta suficiente proteína degradable al rumen, se presenta un descenso en la ingestión de materia seca y en la digestibilidad de la dieta.
- (2) Cuando el flujo de proteína microbiana al cuajar el intestino es insuficiente para cubrir las necesidades del animal, la proteína adicional requerida deberá llegar como tal al cuajar sin ser degradada en el rumen, es decir, se debe aportar PNDR.

La aplicación en la práctica de estos principios es importante pues por un lado asegura el correcto uso del NNP que puede cubrir las necesidades

de las bacterias del rumen cuando la dieta no contenga suficiente PDR; y por otro lado, reconoce que las fuentes proteicas pueden tener diferente valor para los rumiantes en función de la cuantía de su degradación en el rumen.

3.1. Sistema Factorial

El NRC (1.978) estima las necesidades en proteína mediante el método factorial, es decir, las necesidades globales son iguales a las pérdidas (corregidas por un factor de eficiencia) más la proteína segregada en leche (igualmente corregida). La fórmula empleada para calcular las necesidades es:

$$\text{PB total} = \frac{U+F+S+G+C}{E_p} + \frac{L}{E_p}$$

Donde:

U = 6,25 x Nitrógeno excretado en orina.

F = 6,25 x Nitrógeno metabólico fecal.

S = Proteína perdida en secreciones y descamaciones cutáneas.

G = Proteína asociada a la ganancia de peso en animales en crecimiento.

C = Proteína depositada en los productos de la concepción.

L = Proteína neta para la síntesis de leche.

E_p = Factor de corrección de eficiencia para convertir las necesidades de proteína neta en proteína bruta.

U: Es el nitrógeno que se elimina en orina multiplicado por 6,25 que se puede perder en animales que reciban una dieta carente de nitrógeno. Es función de la raíz cuadrada del peso vivo y se calcula como:

$$U \text{ (g/d)} = 2,75 \times \text{PV}^{0,5} \text{ (Kg.)}$$

F: Es 6,25 multiplicado por el nitrógeno metabólico fecal; es decir, el nitrógeno que contienen las heces de los rumiantes alimentados con una dieta carente de nitrógeno. Equivale al 6,8% de la materia seca fecal y es aproximadamente igual al 3 % de la materia seca ingerida cuando el animal recibe raciones completas de forraje/concentrado.

S: Es la proteína que se pierde en secreciones y descamaciones cutáneas. Es función de la superficie corporal y se calcula según la fórmula:

$$S \text{ (g/d)} = 0,2 \times \text{PV}^{0,6} \text{ (Kg.)}$$

G: Es la proteína acumulada en los tejidos de animales en crecimiento. Varía según la edad del animal desde un 19% de la ganancia de peso en animales recién nacidos hasta el 16% en animales casi maduros.

L: Es la proteína neta que se necesita para la síntesis de proteína de la leche y equivale a la suma de la proteína que contiene la leche más las pérdidas fecales que resultan de una mayor ingestión de alimento para cubrir las mayores necesidades de lactación.

Ep: Representa el factor necesario para convertir las sumas de requerimientos de proteína neta en sus equivalentes en proteína bruta. Los factores se basan en:

- Porcentaje de la proteína bruta que puede ser absorbida como aminoácidos; es un concepto similar, aunque no equivalente, al de digestibilidad.
- Eficiencia de conversión de la proteína absorbida para mantenimiento, ganancia de peso y producción de leche. Para mantenimiento y crecimiento, $Ep = 0,45$; para lactación, $Ep = 0,52$.

Para facilitar el cálculo, el NRC (1.978) incluye numerosas tablas que simplifican los cálculos, pero considera que hay que tener en cuenta ciertos factores a la hora de confeccionar raciones:

- * Si la dieta no tiene una concentración energética normal hay que tener en cuenta que las pérdidas de proteína metabólica fecal están en razón inversa a la digestibilidad.
- * En ocasiones, las necesidades de proteína de la vaca son escasas, no llegando al 11-12% de la materia seca. En este caso, cuando la concentración de PB en la ración es baja, se produce reducción del apetito, digestibilidad y utilización de la dieta, por lo que será conveniente un mayor aporte de proteína que el calculado por los factores.
- * La disponibilidad de la proteína de los alimentos se reduce por el calentamiento. Un alimento ligeramente dañado por el calor tiene una utilización del 80%; si el forraje ha sufrido un calentamiento intenso, y está marrón oscuro o ennegrecido, las pérdidas pueden llegar al 80%.
- * Hay que tener en cuenta la solubilidad de la proteína al formular una ración.
- * El NNP no debe ser más del 1 % de la IMS (equivale aproximadamente al 0,5% de urea).

EJEMPLO: Cálculo de las necesidades de proteína de una vaca de 600 Kg. que produzca 30 Kg. de leche al día con 3,5% de MG sin considerar aumento de peso ni gestación.

SEGÚN LAS TABLAS:

Necesidades de mantenimiento: 486 g.

Necesidades para 1 Kg. de leche con el 3,5% de MG: 82g.

Necesidades de producción: $30 \times 82 = 2.460$ g.

Necesidades totales: $489 + 2.949$ g.

Para una IMS igual al 3,2% del PV, es decir de 19,2 Kg., el porcentaje de PB en la MS de la ración será:

$$\frac{2,949 \times 100}{19,2} = 15,36\% \text{ de PB}$$

CÁLCULO POR FACTORES:

$U = 2,75 \times 600,5 = 674$ g.,

F = para una ración normal, la digestibilidad es del 70%, luego la materia seca fecal será: $19,2 \times 0,30 = 5,76$ Kg.

$F = 5760 \times 0,068 = 391,7$ g.

$S = 0,2 \times 600,6 = 9,3$ g.

G = 0.

C = 0.

L = el porcentaje de proteína de la leche se calcula en función del porcentaje de MG según la ecuación:

% Prot. leche = $1,9 + 0,4$ (% MG), luego,

% de proteína en leche: $1,9 + 0,4 \times 3,5 = 3,3$.

$L = 30000 \times 0,033 = 990$ g.

Necesidades: $\frac{67,4}{0,45} + \frac{391,7}{0,52} + 9,3 + 990 = 2.945$ g.

que equivaldrían al 15,33 de PB sobre la MS de la ración.

3.2. Sistemas de proteína metabolizable (PM)

El concepto de PM fue introducido por Burroughs y col. (1.972, 1.973, 1.975). Puede definirse como la cantidad de proteína absorbida (procedente de alimentos y de microorganismos) en estómagos e intestinos. Es un concepto asimilable al de energía metabolizable. Es importante reseñar que fueron los primeros investigadores que comenzaron a utilizar los conceptos de proteína microbiana y es el origen de sistemas posteriores basados en Proteína Digestible Intestinal, el PDI del INRA y de todos los sistemas posteriores que relacionan la síntesis de proteína microbiana con la energía disponible para los microorganismos del rumen.

La cantidad de proteína metabolizable o absorbible no está relacionada linealmente con la ingestión de proteína bruta, sino con la producción de amoníaco en el rumen: cuando la producción de NH_3 en el rumen no llega a alcanzar los niveles adecuados, todas las fuentes de N son aproximadamente iguales para el rumiante, pero cuando comienza a acumularse amoníaco, la adición de NNP no contribuye a producir proteína, y la proteína verdadera adicional, sólo contribuye a la proteína metabolizable en la medida en que la proteína escapa del rumen y es digerida en el intestino (proteína "by-pass"). En consecuencia, las raciones ricas en proteína, dan un menor porcentaje en PM que las raciones pobres en proteína (donde la proteína se aprovecha con más eficiencia).

Con raciones normales, cuando el límite de síntesis de nitrógeno amónico no alcanza el nivel de 5 Mg. por 100 ml. de líquido ruminal, 1 Kg. de proteína en la ración produce 0,75 kg. de proteína metabolizable, de los que 450 gramos corresponden a proteína microbiana y 300 gramos a proteína de la dieta. Sin embargo, si se suministra proteína en exceso de modo que la población microbiana sólo aprovecha parte del NH_3 (ya vimos que por encima de los 50 Mg./litro, el amoníaco no se utilizaba), sólo se aprovecharían los 300 gramos de PNDR, es decir 300 gramos.

Según Satter y Roffler (1.975), las necesidades proteicas de las vacas lecheras deben fijarse en proteína metabólica y no en proteína digestible, pues si bien ambas son de parecida magnitud cuando la ración tiene poca proteína, 13% ó menos, no sucede lo mismo con raciones ricas en proteína, 16-17% que se emplean al comienzo de lactación. Para el cálculo de las necesidades se debe tener en cuenta:

- Necesidades de mantenimiento: 2,4 gramos de proteína por Kg. de peso metabólico. Una vaca de 600 Kg. necesitaría 291 gramos de PM para mantenimiento.
- Por cada Kg. de pérdida o ganancia de peso, se acumulan o liberan 0,15 Kg. de proteína. En las primeras semanas de lactación, con cada Kg. de peso que pierde la vaca se suplementa la proteína ingerida con 0,15 Kg. de proteína metabolizable. Posteriormente, cuando la vaca gana peso, se necesitan 0,15 Kg. de PM por cada Kg. ganado.
- La eficiencia de la PM para ganancia de peso o para producir leche es de un 60%.
- La leche tiene aproximadamente un 3% de proteína.

Una vaca con 600 Kg. de peso, en crecimiento (75 gramos/día) y produciendo 30 Kg. de leche al día, necesitaría 1818 gramos de PM. El factor de conversión de proteína bruta en proteína metabolizable es 1 Kg. PB = 0.75 Kg. de PM. por lo que se debería aportar diariamente $1818/0,75 = 2424$ gramos.

Al comienzo de la lactación serán precisas raciones ricas en proteína (15-16% de PB sobre MS), pero luego puede bajar a 13% a partir de las doce semanas 1011 % de PB al final de la lactación. Estos datos teóricos de las necesidades de las vacas son confirmados por la práctica: a partir de la 15 semana de lactación o cuando las vacas producen menos de 20 Kg. de leche al día es suficiente una ración con el 11,5-12% de proteína bruta sobre MS. Dado que el NNP no da beneficio alguno a partir de raciones con el 13% de PB, en las primeras semanas de lactación, toda la proteína debe ser de origen alimentario, pues la urea no daría resultado alguno. Sólo en los dos tercios finales de lactación se puede añadir urea, cuando la ración tenga niveles de PB inferiores al 13%.

3.3. Sistema PDI (Proteína Digestible Intestinal)

Este sistema se desarrolló en Francia (Verite y col., 1.979) donde se emplea actualmente, así como en muchos otros países. Es un sistema muy utilizado y se explica con mucho detenimiento en la publicación del INRA (1.981). Fundamentalmente es un desarrollo de las ideas de Burroughs y col. (1.975) al simplificar, hacer más comprensible y cuantificar el concepto de los autores antes citados de "potencial de fermentación de urea". Los fundamentos del sistema PDI son los siguientes:

- La proteína útil para el rumiante es la que alcanza el intestino y es digerida. El concepto PDI equivale al de la Proteína Metabolizable.
- La proteína proviene de :
 - a) De la parte de la proteína del alimento que no ha sufrido degradación en el rumen y alcanza el intestino delgado para ser digerida. Es la PDIA (proteína digestible intestinal de origen alimentario), concepto que equivale a la PNDR multiplicada por su digestibilidad real.
 - b) De la proteína digerida y absorbida sintetizada por los microbios (PDIM, proteína digestible en el intestino de origen microbiano). Un alimento puede dar lugar a la síntesis de pro-

teína microbiana si aporta energía o si aporta nitrógeno, por lo que se consideran dos valores diferentes para la PDIM de los alimentos:

- * PDIMN: Potencial de síntesis de proteína microbiana de un alimento en razón de su contenido en nitrógeno soluble en rumen.
- * PDIME: Potencial de síntesis de proteína microbiana de un alimento en razón de su contenido en energía fermentable.

Como para un alimento dado los valores de PDIA son constantes, se obtienen dos valores de PDI:

- * PDIN (PDIA + PDIMN): valor nitrogenado real de un alimento calculado a partir de su contenido en nitrógeno no degradable y del degradable.
- * PDIE (PDIA + PDIE): valor nitrogenado real de un alimento calculado a partir de su contenido en nitrógeno no degradable y de su energía disponible para los microorganismos del rumen.

Cuando se considera un alimento aislado o una mezcla de alimentos el valor PDI que se toma es el valor menor entre PDIN y PDIE, pues la síntesis de proteína microbiana estará limitada por el aporte de nitrógeno o el aporte de energía fermentable. Con un ejemplo extremo, se ve el efecto de combinar dos alimentos complementarios:

Los valores PDI para la tapioca (Inra, 1.981), un alimento con mucho almidón y poca proteína son:

$$\text{PDIN} = 2,0\% ; \text{PDIE} = 7,6\% \text{ (sobre MS).}$$

Considerando este alimento aislado, el valor PDI sería del 2% porque las bacterias aunque tengan mucha energía para sintetizar proteína, el bajo contenido en N actúa como limitante.

Con la urea ocurre lo contrario. Tiene mucho nitrógeno soluble, pero no energía para el crecimiento microbiano. Si se alimentara sólo con urea (y no hubiera toxicidad), la falta de energía impediría la síntesis de proteína microbiana. Los valores PDI de la urea son: PDIN = 161% ; PDIE = 0%. Una mezcla de tapioca/urea (97/3) tendrá los siguientes valores:

$$\text{PDIN} = 0,97 \times 2\% + 0,03 \times 161\% = 6,77\%$$

$$\text{PDIE} = 0,97 \times 7,6\% + 0,03 \times 0\% = 7,37\%.$$

El PDI de la mezcla de tapioca/urea sería 6,77% pues se toma el valor más bajo.

Para el cálculo de PDI de un alimento, se parte del contenido en proteína bruta del alimento, la solubilidad de la proteína y el contenido en materia orgánica digestible. Se considera que el 65% de las materias nitrogenadas del alimento alcanzan el intestino como proteína verdadera, y su digestibilidad es variable según el tipo de alimento. Por otra parte, en la panza, se sintetizan 135 gramos de materia nitrogenada microbiana por Kg. de materia orgánica digestible ingerida (MOD), de las cuales el 80% es proteína verdadera que tiene una digestibilidad del 70%.

Así se calculan los valores:

$$PDIA = 0,65 \times PB (\% \text{ insolubilidad}) \times (\text{digestibilidad real})$$

$$PDIME = PB [\text{Solubilidad} + 0,35 (1 - \text{Solubilidad})] \times 0,80 \times 0,70 = (0,196 + 0,364 \times \text{solubilidad}) \times PB.$$

$$PDIE = PDIA + PDIME.$$

$$PDIN = PDIA + PDIMN.$$

El contenido real en PDIA sólo se conoce para unos pocos alimentos, y los cálculos están basados en experiencias realizadas con carneros castrados. Quizá esta sea la principal laguna del sistema que irá mejorando a lo largo del tiempo.

Las necesidades se calculan como:

- Mantenimiento: $PDI (g) = 3,25 \times PV^{0,75}$ (Kg.). Para PV mayores de 400 Kg., $PDI = 95 + 0,5 \times PV$.
- Producción de leche: se calcula que la eficiencia de transformación de la PDI en proteína de leche es del 67%, luego las necesidades en PDI por Kg. de leche producida serán los gramos de proteína de la leche divididos por 0,67. Para una leche normal, con el 3,5% de MG y el 3,15% de proteína necesita 47 gramos de PDI por Kg. de leche.
- Crecimiento de novillas: 0,28 g de PDI por cada gramo de aumento diario de peso.
- Gestación: aumentan conforme se acerca el momento del parto: 78 g de PDI al día en el 60 mes, 132 gramos de PDI al día en el 70 mes, 203 gramos de PDI en el último mes de gestación.

3.4. Sistema de Chalupa (1.980)

En primer lugar, fija las necesidades en proteína neta:

- Nitrógeno urinario: Prot. Neta (g) = 0,938 x PV^{0,78}.
- Proteína metabólica fecal: P. Neta (g) = 0,01 x IMS.
- Secreciones cutáneas: P. Neta (g) = 0,2 x PV^{0,6}.
- Gestación en los 2 últimos meses: P. Neta = 1,136 x PV^{0,7}
- Necesidades para síntesis de leche:

P. Neta (g) = g de leche x (0,019 + 0,4 x proporción MG).

Chalupa considera que 100 gramos de proteína metabolizable rinden 70 gramos de proteína neta.

Las necesidades de proteína neta y metabolizable para una vaca de 600 Kg. produciendo 30 Kg. de leche con el 3,5% de MG serían:

$$U = 0,938 \times 600^{0,75} = 114 \text{ g.}$$

$$F = 0,01 \times 19,2 \times 1.000 = 192 \text{ g.}$$

$$S = 0,2 \times 600^{0,6} = 9 \text{ g.}$$

$$L = 30.000 \times (0,019 + 0,4 \times 0,035) = 990 \text{ g.}$$

$$\text{TOTAL} = 1305 \text{ g.}$$

$$\text{Necesidades en PM} = 1.305 / 0,70 = 1.864 \text{ g.}$$

A la hora de aportar proteína debemos tener en cuenta que la proteína metabolizable proviene de la proteína microbiana y de la proteína del alimento que no ha sufrido degradación.

En última instancia, la producción de proteína bruta microbiana (N microbiano x 6,25) es de 25 gramos por cada 100 gramos de materia orgánica fermentable, y la cantidad de MOF es igual a:

$$\text{MOF} = \text{EM} \times \frac{1}{0,82 \times 0,0045} \times 0,65 = 176 \times \text{EM}$$

donde: 0,82: descuento de la producción de metano (18%)

0,0045: Energía digestible (Mcal/g) en la MO Digestible.

0,65: El 65% de la MOD es MOF.

Luego, el aporte de proteína degradable en rumen será:

$PDR = EM \times 176 \times 0,15 = EM \times 26$ (por cada 100 gramos de MOF se sintetizan 15 gramos de proteína bruta microbiana, de ahí el hecho de multiplicar por 0,15).

Así pues, el máximo de gramos de proteína microbiana que se puede sintetizar es igual a 26 veces el contenido de EM de la ración expresado en Mcal, y esa será la cantidad de PDR que se debe suministrar.

Hay que tener en cuenta, sin embargo, que, de la proteína bruta microbiana, sólo el 80% es proteína verdadera (el 20% restante corresponde a nitrógeno de los ácidos nucleicos de las bacterias) y que la digestibilidad media de la proteína es del 75%. Por lo tanto, la contribución de la PDR a la proteína metabolizable será:

$PM = PDR \times 0,80 \times 0,75$, y el resto deberá ser aportado por PNDR.

Los aportes de PNDR serán:

$$PNDR = \frac{\text{Prot.Metabolizable} - (PDR \times 0,80 \times 0,75)}{0,75}$$

Para la vaca del ejemplo anterior deberíamos suministrar:

$PDR = EM \times 26 = 50,92 \times 26 = 1.324$ g (para ese peso y producción, las necesidades en PM son de 50,92 Mcal de EM).

$$PNDR = \frac{1.864 - (1.324 \times 0,80 \times 0,75)}{0,75} = 1.426 \text{ g.}$$

Las necesidades totales en proteína bruta serían

$$PB = 1324 + 1426 = 2750 \text{ gramos (el 14,32\% de la MS)}$$

Este sistema, al considerar que sólo se producen 15 gramos de proteína microbiana por cada 100 gramos de MOF, da como resultado unas mayores necesidades en PNDR que los otros sistemas que consideran que la síntesis de proteína microbiana es mayor (como el sistema PDI o el NRC, 1.988).

3.5. El Sistema NRC (1.988)

Adopta muchos de proteína metabolizable y es en una gran parte tributario del sistema de Chalupa (1.980), aunque considera diferentes fac-

tores, por lo que las necesidades en proteína no degradable son considerablemente menores que en el sistema de Chalupa (1.980). La síntesis de proteína microbiana se calcula según la ecuación:

$$\text{PB bact.} = 6,25 (-30,93 + 11,45 \text{ EnI}),$$

Por lo que, siguiendo con el ejemplo anterior, una vaca de 600 Kg. con una producción de 30 Kg. de leche de 3,5% de MG tiene unas necesidades de 32,03 Mcal de ENI, luego la cantidad total de Proteína microbiana sería de: $6.25 (-30,93 + 11,45 \times 32,03) = 2098$ gramos. Descontando el nitrógeno endógeno, la cantidad de PDR que habría que aportar sería de 1.897 gramos al día, y 1.137 gramos de PNDR.

3.6. Necesidades de las Vacas Lecheras

Basándonos en los trabajos publicados que ya se han reseñado, proponemos las necesidades que figuran en la Tabla 4.

Se expresan las necesidades globales en aras de la sencillez, tanto de los análisis de las materias primas como de la formulación de la ración. En todas las tablas se encuentran los valores de PB de los alimentos, y por otra parte, al considerar los valores de degradabilidad ya se tienen en cuenta los nuevos conceptos de nutrición nitrogenada de las vacas lecheras. El sistema no es perfecto, porque en definitiva lo que importa es el balance de aminoácidos y esta tabla (ni por otra parte ninguno de los sistemas propuestos) tiene en cuenta la calidad de los aminoácidos de la proteína alimentaria. Por ejemplo, el gluten de maíz con el 60% de PB presenta valores muy bajos de degradabilidad, pero la calidad biológica de la proteína es mediocre.

De cualquier manera, hemos obtenido rendimientos muy satisfactorios en numerosas vaquerías de toda España utilizando los valores reseñados en la tabla 4, y nos parecen perfectamente válidos, aunque siempre susceptibles de mejora.

Producción lechera (Kg./día)	IMS (KG./DÍA)	PB (Gramos/día)	% de PB sobre la MS	PNDR (g.)	% de PNDR sobre la PB
Vacaseca	11,0	950	8,6	-	-
10	15,1	1.350	9,0	-	-

15	16,5	1.760	10,7	700	40
20	18,0	2.170	12,1	930	43
25	19,0	2.580	13,6	1.161	45
30	21,0	2.990	14,2	1.435	48
35	22,5	3.400	15,1	1.734	51
40	24,0	3.810	15,9	2.057	54
45	25,0	4.220	16,9	2.363	56
50	26,5	4.630	17,5	2.685	58
55	28,0	5.040	18,0	3.025	60

TABLA 4. Necesidades diarias de una vaca lechera de 600 Kg. de peso vivo para mantenimiento y producción de leche con el 3,5% de materia grasa.

4. NECESIDADES PROTEICAS DEL VACUNO DE CEBO

Para el cálculo, se adapta el sistema factorial descrito por el NRC (1.984), similar al del vacuno de leche. Hay algunas diferencias que conviene señalar:

- El vacuno de cebo no tiene productos de la concepción y los epígrafes C y L se suprimen, pues son cero.
- Las necesidades para cubrir G (ganancia de peso) varían en función de la raza, el sexo y la GPV pues varía la composición de la carne repuesta según se verá en el tema "Fisiología del crecimiento". Se obtienen, por lo tanto, diferentes necesidades diarias en proteína que se reflejan en las tablas de necesidades.
- El NRC (1.984) sustituye el valor de eficiencia de la utilización de la proteína (Ep) por el producto $D \times VB \times CE$ (D es la digestibilidad real de la proteína, no la aparente que se cifra en un 90%; VB es el valor biológico de la proteína, que se estima del 66%; CE es la eficiencia con que la proteína degradada en el rumen es transformada en proteína microbiana, que aunque variable entre el 70 y el 120% suele ser en casi todos los casos muy próxima al 100%, y se asume que $CE = 1$.) Este valor $D \times VB \times CE = 0,90 \times 0,66 \times 1 = 0,594$ es superior al indicado en el NRC (1.978) para vacas lecheras en crecimiento. Las necesidades en proteína bruta serían:

$$TPB = \frac{F+U+S+G}{D \times VB \times CE} = \frac{F+U+S+G}{0,90 \times 0,66 \times 1} = \frac{F+U+S+G}{0,594}$$

Si se comparan las necesidades del NRC (1.984) con las necesidades del INRA (1.981) transformando la PD en PB aplicando una digestibilidad del 75%, los resultados son muy similares (Tabla 5).

	NCR (1.984)	IRA (1.981)
Toros en razas de maduración tardía (Charolés etc.)	939	908
Hembras de razas de maduración tardía	803	765
Toros frisones	890	860

TABLA 5. Necesidades en PB de terneros de 400 Kg. de peso con GPV de 1.200 gramos diarios.

5. BIBIOGRAFÍA

- Abou Akkada.A.R., El-Shazly, K. (1.964). *Effects of the absence of ciliate protozoa from the rumen on microbial activity and growth of lambs.* Appl. Microbiol., 12:384.
- Ahrar, M., Schingoethe, DJ. (1.979). *Heat-treated soy-bean meal as a protein supplement for lactating cows.* J. Dairy Sci., 62:932.
- Allison, J.J. (1.970). *Nitrogen metabolism of ruminal microorganisms.* p. 369 en "Physiology of digestion and metabolism in the rumen". AT.Phillipson, Ed. Oriel Press. Newcastle upon Tyne.
- Al Rabbat, M. F., Heanley,D. P. (1.978). *The effect of anhydrous ammonia treatment on wheat straw and steam cooking of aspen wood on their feeding value and on microbial activity: II. Fermentable energy and microbial growth derived from ammonia nitrogen in the ovine rumen.* Can. J. Anim. Sci., 58:453.
- Al Rabbat, M. F., Baldwin, R. L., Weir, W. C. (1.971). *Microbial growth dependence of ammonia nitrogen in bovine rumen: A quantitative study.* J. Dairy Sci., 54:1162.
- Amos, H E. (1.980). *Treatment of proteins to improve utilization by ruminants.* Proc. Georgia Nutr. Conf. for Feed Maunf., 168.
- Anderson, D. P., Beard, C. W., Hanson, R. P. (1.964). *The adverse effects of ammonia on chickens including resistance to infection with Newcastle disease virus.* Avian Dis., 8:369.
- Austin, J. (1.967). *Urea toxicity and its prevention.* p.173 en "Urea as a protein supplement". M. H. Briggs, Ed. Pergamon Press. Oxford.
- Bartley, E. E., Davidovich, A. D., Barr, G. W., Griffel, G. W., Dayton, A. D., Devoe, C. W., Brechtle, R. M. (1.976). *Ammonia toxicity in cattle.* I. Rumen and

- blood changes associated with toxicity and treatment methods. *J. Anim. Sci.*, 43:835.
- Bartley, E. E., Deyoe, C. W. (1981). *Reducing the rate of ammonia release by the use of alternative non-protein nitrogen sources*. p. 99 en "Recent developments in ruminant nutrition". W. Haresign y D. J. A. Cloe, Eds. Butterworths, Londres.
- Beever, D. E., Cammell, S. E., Wallace, A. (1974). *The digestion of fresh, frozen and dried perennial ryegrass*. *Proc. Nutr. Soc.*, 33:73 (Abstr.).
- Beever, D. E., Thompson, D. J. (1981). *The potential of protected proteins in ruminal nutrition*. P.66 en "Recent developments in ruminant nutrition. W. Haresign y D. J. A. Cloe, Eds. Butterworths, Londres.
- Beever, D. E., Thompson, D.J., Cammel, S. B. (1976). *The digestion of frozen and dried grass by sheep*. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 86:443.
- Beever, D. E., Thompson, D. J., Cammell, S. B.; Harrison, D. G. (1977). *The digestion by sheep of silages made with and without the addition of formaldehyde*. *J. Agric. Sci. (Camb.)*, 88:61.
- Beever, D.E., Thomson, D.J., Harrison, D.G. (1971). *The effects of drying and fuc communitation and red clover on its subsequent digestion by sheep*. *Proc. Nutr. Soc.*, 30:86A (Abstr.).
- Bird, P. R., Hume, L. D. (1971). *Sulfur metabolism and excretion studies in ruminants. 4. Cystine and sulfate effects upon the flow of sulfur from the rumen and upon sulphur excretion by sheep*. *Austr. J. Agric. Res.*, 22:443.
- Bird, S. H., Hill, M. K., Lemg, R.A. (1979). *The effects of defaunation of the rumen on the growth of lambs on low-protein, high-energy diets*. *Br. J. Nutr.*, 42:81.
- Bird, S. H., Leng, R. A. (1978). *The effects of defaunation of the rumen on the growth of cattle on low-protein, high-energy diets*. *Br. J. Nutr.*, 40:163.
- Borhami, B. E. A., El Shazly, K., Abou Akkada, A. R., Ahmed, I. A. (1967). *Effect of early establishment of ciliate protozoa in the rumen on microbial activity and growth of early weaned buffalo calves*. *J. Dairy Sci.*, 56: 1.459.
- Bouchard, R., Conrad, H. R. (1973). *Sulfur requirement of lactating dairy cows. II. Utilization of sulfates, molasses and lignin sulfonate*. *J. Dairy Sci.*, 46:1459.
- Broderick, G. A., Balthrop Jr., J.E. (1979). *Chemical inhibition of amino acid deamination by ruminal microbes in vitro*. *J. Anim. Sci.*, 49:1.101.
- Bryant, M. P., Small, N., Bouma, C., Robinson, I. (1958). *Studies on the composition of the ruminal flora and fauna of young calves*. *J. Dairy Sci.*, 41:1.747.
- Burroughs, W., Jacobson, N. L., Nelson, D.K. (1973). *Application of the metabolizable protein system for milk production*. *Proc. Maxyland Nutr. Conf. for Feed Manuf.* p.71.
- Burroughs, W., Jacobson, N.L., Trenkle, A. H., Vetter, R. L. (1972). *Proposed new system of evaluating protein nutrition on feedlot cattle (metabolizable protein and*

- urea fermentation potential (UFP of feeds). Iowa State Univ., Coop. Ext. Serv. Leaflet, EC- 7771. Ames, Iowa.
- Burroughs, W., Nelson, D.K., Mertens, D. R. (1975a). *Evaluation of protein nutrition by metabolizable protein and urea fermentation potential*. J. Dairy Sci., 58:611.
- Burroughs, W., Nelson, D.K., Mertens, D. R. (1975b). *Protein physiology and its application in the lactating cow: The metabolizable protein feeding standard*. J. Anim. Sci., 41:933.
- Buttety, P.J. (1981). *Aspects of the biochemistry of rumen fermentation and their implication in ruminant productivity*. p .140 en "Recent developments in ruminant nutrition". W. Haresign y D. J. A. Cole, Eds. Butterworths, Londres.
- Chalmers, M. I., Grant, I., White. F. (1976). *Nitrogen passage through the wall of the ruminant tract*. p.159 en "Protein metabolism and nutrition". D.J.A.Cole, K.N.Boorman, P.J.Buttery, D.Lewis, R.J.Neale, H.Swan Eds. Butterworths, Londres.
- Chalupa, W. (1975). *Rumen by-pass and protection of proteins and aminoacids*. J. Dairy Sci., 58:1.198.
- Chalupa, W. (1980). *Methods for estimating protein requirements and feed protein values for ruminants*. Feedstuffs, 52 :(26): 18.
- Chalupa, W., Chow, A. W., Parish, R. C. (1976a). *Chemical inhibition of amino acid degradation by rumen microbes*. Fed. Proc., 35:258.
- Chalupa, W., Oltjen, R. R., Dinius, D. A. (1973). *Sulphurnutrition for urea-fed cattle*. J. Animal.Sci., 37:340 (Abstr.)
- Chalupa, W., Patterson,J.A., Chow, A. W., Parish, R. C. (1976b). *Deaminase inhibitor effects on animal performance*. J. Anim. Sci., 43:316.
- Chalupa, W., Patterson, J. A., Chow, A. W., Parish, R. C. (1976c). *Deaminase inhibitor effects on N-utilization*. J. Anim. Sci., 43:309.
- Chand, D., Varma, S. D., Kushwaha, R. P. S. (1968). *Active transport of glycine by rumen epithelium of goats*. J. Dairy Sci., 51:1420.
- Church, D. C. (1974). *Microbiología del rumen*. p. 184 en "Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes". Vol. 1. *Fisiología digestiva*. Ed. Acribia. Zaragoza.
- Clark, J. H., Davis, C. L., Hatfield, E. E. (1974). *Effects of formaldehyde treated soybean meal on nutrient use, milk yield and composition, and free aminoacids in the lactating bovine*. J. Dairy Sci., 57: 1.031.
- Clark, J. H., Grummer, R. R, Crooker, B. A. (1980). *Protein nutrition of lactating dairy cows*. 41 Minnesota Nutr. Conf.for Feed Manuf., J.Donker, G.Wagner Eds. p.17.
- Cole, N. A, Jhonson, R. R., Owens, F.N., Males,J.R. (1976). *Influence of roughage level and corn processing method on microbial protein synthesis by beef steers*. J. Anim. Sci., 43:497.

- Coleman, G. S., Dawson, R. M. C., Grime, D. W. (1980). *The rate of passage of ciliate protozoa from the ovine rumen*. Proc. Nutr. Soc., 39:6A (Abstr.)
- Cook, R. M., Brown, R. E., Davis, C. L. (1965). *Protein metabolism in the rumen. I. Absorption of glycine and other amino acids*. J. Dairy Sci., 48:475.
- Davis, R.F. (1978). Response of dairy cattle to ration protein of different solubilities. Proc. 1978 Maxyland Nutr. Conf. for Feed Manuf., p.116. Demeyer, D.; Van Nevel, C. (1980). Nitrogen exchanges in fue rumen. Proc. Nutr. Soc. 89:89. Eadie, J.M. (1962). The development of rumen microbial populations in lambs and calves under various conditions of management. J. Gen. Microbiol., 29:563.
- Folman, Y.; Mewmark, H.; Kaim, M.; Kaufmann, W. (1981). Performance, rumen and blood metabolites in high yielding cows red varying protein percent and protected soybean. J. Dairy Sci., 64:759.
- Forsberg, C.W.; Lam, K. (1977). Use of adenosine 5' triphosphate as an indicator of fue microbiota biomass in fue rumen contents. Appl. Environ. Microbiol., 33:528.
- Ganev, G.; Orskov, E.R.; Smart, R. (1979). The effect of roughage or concentrate feed Jg and fue retention time on total degradation of protein in fue rumen. 1. Agric. Sci. Camb., 93 :651.
- Garrett, J.E.; Goodrich, R.D.; Meiske, J.C. (1982). Measurement of bacterial nitrogen using D-alanine. p.23 en "Protein requirements for cattle: Symposium". F.N.Owens, Ed. Stillwater, Oklahoma.
- Hagemester, H.; Lüpping, W.; Kaufmann, W. (1981). Microbial protein synthesis and digestion in fue high yielding dairy cow. p.31 en "Recent developments in ruminant nutrition". W.Haresign y D.1.A.Cloe, Eds. Butterworths, Londres.
- Harmeyer, H.; Holler, H.; Martens, H.; Von Grave, C. (1976). Estimate of microbial protein synthesis in vitro by fue simultaneous use of btree different isotopic markers. p.69 en "Tracer studies on nonprotein nitrogen fOl ruminants, 11" F AO/IAEA.
- Hanison, D.G.; Beever, D.E.; Thompson, D.J.; Osbourn, D.F. (1973). The influence of diet upon fue quantity and types of amino acids entering and leaving fue small intestine of sheep. J. Agric. Sci. Camb., 81 :391.
- Harrison, D.G.; Beever, D.E.; Thompson, D.1.; Osbourn, D.F. (1976). Manipulation offermentation in fue rumen. J. Sci. Food. Agr.27:617.
- Hawrowitz, F. (1979). Protein. en "The New Encyclopaedia Britannica", 15 Ed. Macropaedia, voU5, p.81. Encyclopaedia Britannica mc. Ed. Chicago.
- Hobson, P.N. (1965). Continuous culture of some anaerobic and facultatively anaerobic rumen bacteria. J. Gen. Microbiol., 38:167.

- Hobson,P.N.; Summers,R (1967). The continuous culture of anaerobic bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 47:53.
- Haupt,TR (1959). Utilization of blood urea in ruminants. *Am. J. Physiol.*, 197:115.
- Hume,LD.; Bird,PR (1970). Synthesis of microbial protein in the rumen. IV. The influence of urea level and form of dietary sulfur. *Austr. J. Agric. Res.*, 212:315.
- Isaacson, HR; Hind,RC.; Bryant,M.P.; Owens,F.N. (1975). Efficiency of energy utilization by mixed rumen bacteria in continuous culture. *J. Dairy Sci.*, 58:1645-0
- Jordan,ER; Swanson,LV. (1979a). Effect of crude protein on reproductive efficiency, serum total protein and albumin in a high producing dairy cow. *J. Dairy Sci.*, 62:58.
- Jordan,E.R.; Swanson,L.V. (1979b). Serum progesterone and luteinizing hormone in a high producing dairy cow. *J. Dairy Sci.*, 62:1154.
- Kaufman, W; Hagemeister,H. (1976). Zum Einfluss der Behandlung von Protein mit Formaldehyd auf die bakterielle Protein Synthese und die Abbaurate von Protein in den Vormagen von Milchkühen auf die Verdaulichkeit des Proteins in Darm. *Kieler Milchw. Forsch. Ber.*,28:335.
- Kellaway ,RC.; Ranawana,S.S.E.; Buchanan,J.H.; Smart,LD. (1974). The effect of nitrogen source in the diet on milk production and amino-acid uptake by the udder. *J. Dairy Res.*, 41 :305.
- Kennedy,P.M.; Christopherson,LP.; Milligan,L.P. (1976). The effect of cold exposure of sheep on digestion, rumen turnover and efficiency of microbial synthesis. *Br. J. Nutr.*, 36:231.
- Kennedy,P M.; Milligan,L.P. (1978). Effects of cold exposure on digestion, microbial synthesis and nitrogen transformations in sheep. *Br. J. Nutr.*, 39:105.
- Knight,R.; Sutton,J.D.; McAllan,A.B.; Smith,R.H. (1978) The effect of dietary lipid supplementation on digestion and synthesis in the rumen of sheep. *Proc. Nutr. Soc.*, 37:14A (Abstr.)
- Leng,RA. (1970). Formation and production of volatile fatty acids in the rumen. p.406 en "Physiology of digestion and metabolism in the ruminant". A. T Phillipson,Ed. Oriel Press. Newcastle-upon- Tyne. Leng,RA.; Nolan, I.V. (1984). Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.*, 67:1072. Lindsay, J.R.; Hogan,J.P. (1972). Digestion of two legumes and rumen bacterial growth in defaunated sheep. *Aust. J. Agric. Res.*, 23:321. Li Pun,H.H.; Satter,LD. (1975). Nitrogen fixation in ruminants. *J. Anim. Sci.*, 59:68. Maeng, W.J.; Van Nevel,C.J.; Baldwin,R.L.; Morris,J.G. (1976). Rumen microbial growth rates and yields: effects of amino acids and proteins. *J. Dairy Sci.*, 59:68.
- Magendie,F. (1816). Sur les propriétés nutritives des substances qui ne contiennent pas d'azote. *Aun. Chim. et Ser. Phys.* 2:66. (Citado por Maynard, 1968).

- Mahadevan,S.; Ertle,J.D.; Sauer,J.D. (1980). Degradation of soluble and insoluble proteins by *Bacterioides amylophylus* protease and by rumen microorganisms. 1. Anim. Sci., 61 :59.
- Majdoub,A.; Lane,G. T.; Aitchison, T.E. (1978). Milk production response to nitrogen solubility in dairy rations. J. Dairy Sci., 61:59. Mathison,G.W.; Milligan,L.P. (1971). Nitrogen metabolism in the sheep. Brit. J. Nutr., 25:351. Maynard,LA. (1968). Nutrición animal. Fundamentos de la alimentación del ganado. Ed. Unión Tipográfica Editorial Hispanoamericana. Ciudad de México.
- McRae,1.C.; Ulyatt,M.1.; Pearce,P.D.; Hendt1ass,1. (1982). Quantitative intestinal digestion of nitrogen in sheep given formaldehyde-treated and untreated casein supplements. Br. 1. Nutr., 27:39.
- Mehrez,A.Z.; Orskov,ER (1977). A study ofthe artifiial fibre bag technique for determining the digestibility offeeds in the rumen. 1. Agric. Sci. Camb., 88:645.
- Mehrez,AZ.; Orskov,E.R.; McDonald,I. (1977). Rates ofrumen fermentation in relation to anunonia concentration. Br. 1. Nutr., 38:437. ieJke,C,D,; Schigoethe,D.I (1980). Heat-treated soybeans for lactating cows. l DIÚry Sci., 63(Suppl. 1): 138 (Abstr.) Miller,E.L. (1973). Evaluation offoods as sources ofnitrogen and amino acids. Proc. Nutr. Soc., 32:79.
- Mohammed,O.E.; Smith,R.M. (Measurement ofprotein degradation in fue rumen. Proc. Nutr. Soc., 36:152A (Abstr.) National Research Council (1978). Nutrient reqWrements of domestic animals. N°3. Nutrient requirements of dairy catt1e, 5th rev. ed. N ational Academy of Sciences. Washington D. C.
- NationalResearch Council (1984). Nutrient requirements of domestic animals. Nutrient requirements ofbeef cattle, 6th rev. ed. National Academy of Sciences. Washington D.C.
- National Research Council (1988). Nutrient requirements of domestic animals. NOJ.Nutrient requirements of dairy catt1e, 6th rev. ed. National Academy ofSciences. Washington D.C.
- Nikolic,IA.; Jovanovic,M,; Djordjevic,D. (1981). Influence of readily digestible carbohydrates on fue utilization of ammonia and sulphur for protein synthesis in rumen contents. Acta Vet., 31: 289.
- NoJan,IV.; Norton,B.W.; Lang,RA. (1976). Further studies ofthe dinamics ofnitrogen metabolism in sheep. Br. J. Nutr., 35:127.
- Nuggent,J.H.A.; Mangan,J.L. (1981). Characteristics ofthe rumen proteolysis ofprotein 1 (185) leafprotein from Incerne (*Medicago saliva*, L.) Br. J. Nutr., 46:39.
- Ofler,N.W.; Axford,RF.E.; Evans,RA. (1978). The effect of dietary energy source on nitrogen metabolism in the rumen of sheep. Br. J. Nutr., 40:34. Oldham,J.D.; Sutton,J.D.; McAllan,A.B. (1979). Protein digestion and utilization by dlÚry cows. Ann. Res. Vet., 10:290. Oltjen,RR; Slyter,L.L.; Williams Jr.,E.E.; Kern,D.L.

- (1971). Influence of fue branched-chain volatile fatty acids and phenilacetate on ruminal, microorganisms and nitrogen utilizati- by steers red ures or isolated soy protein. *J. Nutr.*, 101:101.
- Orskov ,E.R (197 O). Nitrogen utilization by fue young ruminant. p. 20 en "Proc. Sth Nutr. Conf. for F eed Manuf." H. Swann, D.Lewis Eds. Butterworths, Londres.
- Orskov,ER; F raser,R C.; McDona1d,I. (1971). Digestion of concentrates in sheep. Effects of rumen fermentation on barley and maize diets on protein digestion. *Br. I Nutr.*, 26:477. Orskov ,ER; Hugbes-Jones,M.; McDonald,I (1981). Degradability of protein supplements and utilization of undegraded protein by high producing dairy cows. p.17 en "Recent developments .nininant nutrition". W.Haresign y D.JACloe, Eds. Butterworths, Londres.
- Orskov, ER; McDona1d,I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed accordingto rafe of passage. *I Agric. Sci. Camb.*, 92:499.
- Orskov,E.R.; Robinson,J.J. (1981). The application of modero concepts of ruminant protein nutrition to sheep-production systems. *Livest. Prod. Sei.*, 8:339.
- Osbourn,D.F.; Beever,D.E.; Thompson,DJ. (1976). The influence ofophysical processing on fue intake, digestion and utilization of driedherbage. *Proc. Nutr. Soc.*, 35:191.
- Owens,F .N.; Bergen, W.G. (1982). Nitrogen metabolism of ruminant animals: Historieal perspective, current understandings and future implications. *I Anim. Sci.*, 57(Supp1.2):498.
- Payne, J.M.; Dew,S.M.; Manston,R.; FauJks,M. (1971). The use of a metabolic profile test in dairy herds. *Vet. Rec.*, 87:150. Piehard,G.; Van Soest,P.I (1977). Protein solubility ofruminants feeds. *Proc. Comell Nutr. Conf. for Feed Manuf.*, p.91. Pilgrim,A.F.; Gray,F. V.; Weller ,R.A.; Belling, C.B. (1970). Synthesis of microbial protein from ammonia in fue sheep I S rumen and fue proportion of dietary nitrogen con verted into microbial nitrogen. *Br. I Nutr.*, 24:589.
- Pisulewski,P.M.; Okome,A.I; Buttery,P.J.; Haresign, W.R.; Lewis,D. (1981). Ammonia concentratioes and protein synthesis in fue rumen. *I Sei. Food Agric.*, 32:259.
- Poos,M.I.; Hanson, T .L.; Klopfenstein, T. J. (1978). Etfects of monensin on rumen by-pass of protein synthesis. *Abstracts 70th Ann. Meeting, Am. Soco of Animal Science*, p.435.
- Robr,K.; Brandt,M.; CastriUo,O.; Lebzien,P.; Assmus,G. (1979). Der Einfluss eines teilweisen Ersatzes von Futterprotein dureh Hamstoff auf den Stickstoffund Aminosauernfluss am Duodenum. *Landbauforsch. V6Jkenrode*, 29:32.
- Rowe,1B.; Davies,A.; Broome,I (1980). Quantitative etfects of defaunation of rumen fermentation and digestion in fue sheep.

- Proc. Nutr. Soc., 40:49A (Abstr.) Russel,L.D. (1984). Limits to manipulation of rumen fermentation. Proc. Cornell Nutr. COL for Feed Manuf. p.87. Satter,LD. (1978). Protein solubility and degradability.- What do they mean for ruminants? Proc. Florida Nutr. Conf. for Feed Manuf., p.95. Satter,L.D.; Roffler,R.E. (1975). Nitrogen requirements and utilization in dairy cattle. J. Dairy Sci., 58:1219. Satter,L.D.; Roffler,RE. (1981). Influence of nitrogen and carbohydrate inputs on rumen fermentation. p.115 en "Recent developments in ruminant nutrition". W.Haresign y D.JACloe, Eds. Butterworths, Londres.
- Satter,L.D.; Slyter,L.L. (1974). Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. Br. J. Nutr., 32:199.
- Schaeffer,D.M.; Davis,C.L.; Bryant,M.P. (1980). Ammonia saturation constant for predominant species of rumen bacteria. J. Dairy Sci., 63:1248.
- Slyter,LL; Oltjen,RR; Williams Jr,E.E.; Wilson,RL (1971). Influence of urea, biuret, and starch on amino acid patterns in ruminal bacterial and blood plasma on nitrogen balance of steers red high fiber purified diets. J. Nutr., 101:839.
- Smith,RH.; McAllan,A.B. (1974). Some factors influencing the chemical composition of mixed rumen bacteria. Br. J. Nutr., 31 :27.
- Spears,J.W.; Clark,J.H.; Hatfield,E.E. (1985). Nitrogen utilization and ruminal fermentation in steers red soybean meal treated with formaldehyde. 1. Anim. Sci., 60:1072.
- Spears,J.W.; Hatfield RE.; Clark,J.H. (1980). Influence of formaldehyde treatment of soybean on performance of growing steers and protein availability. 1. Anim. Sci., 50:750. Stern,M.D. (1982). Microbial protein synthesis in the rumen. Minnesota Nutr. Conf. for Feed Manuf., p.1. Stern,M.D.; Hoover,W.H.; Sniffen,C.1.; Crooker,B.A.; Knowlton,P.H. (1978). Effects of nonstructural carbohydrate, urea and soluble protein levels on microbial protein synthesis in continuous culture of rumen contents. J. Anim. Sci., 17 :944.
- Tamminga,S.; Van del Koelen,C.1.; Van Vuuren,AM. (1979). Effect of feed intake on nitrogen entering the small intestine of dairy cows. Livest. Prod. Sci., 6:225.
- Verité,R; Journet,M. (1972). Utilization des tourteaux traités au formol par les vaches laitières. n. Effects sur la production laitière du traitement des tourteaux et du niveau d'apport azoté au début de la lactation. Ann. Zoot., 26:183.
- Verité,R.; Journet,M; Jarrige,R. (1979). A new system for feed protein feeding of ruminants: The PDI system. Livest. Prod. Sci., 6:349. Visek,V.J. (1984). Ammonia: its effects on biological systems, metabolic hormones and reproduction. J. Dairy Sci., 67:481. Voo Hanneyer,J. (1971). Der Aminosäurenstoffwechsel isolierter pansenprotozoenarten (*Isotrichia prostoma* und *I. intestinalis*) I. Mitteilung. Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkd. 28:65.

- Wachira, J.D.; Satter, L.D.; Brooke, G.P.; Pope, A.L. (1974). Evaluation of formaldehyde-treated protein for growing lambs and lactating cows. 1. Anim. Sci., 39:7%.
- Waldo, D.R.; Glenn, B.P. (1984). Comparison of new protein systems for lactating dairy cows. J. Anim. Sci., 67:1115. Weiske (1987): citado por Owens (1977).
- Whetstone, H.D.; Davis, C.L.; Bryant, M.P. (1980). Effect of monensin on breakdown of protein by ruminal microorganisms in vitro. Abstr. 42nd Ann. Meeting, Amer. Soc. Anim. Sci., p.410.
- Wilson, G.F. (1970). The influence of protein supplements on milk yield and composition. Proc. Soc. Anim. Prod., 30:123. Wohlt, J.E.; Sniffen, C.J.; Hoover, W.H. (1973). Measurement of protein solubility in common feedstuffs. 1. Dairy Sci., 56:1052. Woher, R. (1981). Alimentation azotée en début de lactation chez la vache laitière à haute production. Rec. Med. Vet., 157:775 Y 843.
- Zinn, R.A.; Owens, F.N. (1983a). Influence of feed intake level on site of digestion in steers red a high concentration diet. 1. Anim. Sci., 56:471.
- Zinn, R.A.; Owens, F.N. (1983b). Site of protein digestion in steers: Predictability. J. Anim. Sci., 56:707.

