



Tesis Doctoral

Efecto de la suplementación energética sobre la fisiología digestiva del ganado caprino: Uso de anticuerpos policlonales multivalentes de origen aviar como moderador de parámetros ruminales.

Autor: Ing. Agr. Rubén Omar Arias.

Director: Med. Vet. Lacchini Raúl Alfredo.

Codirector: In. Agr. PhD. Nicolás Dilorenzo.

Lugar: Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales UNLP.

Fecha: 21 de junio 2017.

Tesis Doctoral presentada para la obtención del título de Doctor en Ciencias Agrarias y Forestales.

Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. UNLP.

Título: Efecto de la suplementación energética en la fisiología digestiva del ganado caprino: Uso de Anticuerpos Policlonales Multivalentes de origen aviar como moderador de parámetros ruminales.

Ing. Agr. Ruben Omar Arias

Autor

Med.Vet. Raúl Alfredo Lacchini

Director

Ing. Agr. PhD. Nicolás Dilorenzo

Codirector

AGRADECIMIENTOS

Agradezco, en primer término, al Estado por haber tenido la posibilidad de realizar esta tesis doctoral de manera absolutamente gratuita y en segundo término, obviamente al apoyo de mi familia, Director y Codirector, compañeros de trabajo de Cátedra, colaboradores varios, Laboratorio de Bioquímica y Fitoquímica de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la UNLP, Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de UNLP, Laboratorio de la Cátedra de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de UNLP, Cátedra de Patología aviar de la Facultad de Ciencias Veterinarias de UNLP y Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de UNLP .

Ing Agr. Rubén Arias

RESUMEN

El objetivo de este trabajo de tesis fue evaluar el efecto de la suplementación energética en la fisiología digestiva del ganado caprinos y el uso de anticuerpos policlonales multivalentes de origen aviar (PAP-MV) como moderador de parámetros ruminales. A su vez, el efecto del nivel, grado de procesamiento del suplemento y disponibilidad del forraje, en la digestibilidad total aparente de la MS consumida y de la fibra. En este capítulo se llevaron a cabo los siguientes experimentos: **Experimento II.I:** Efecto del grano entero de maíz sobre la digestibilidad de la fibra de la dieta consumida para distintas relaciones forraje/concentrado (F/C). Se suministraron 3 dietas: heno a base de alfalfa 2,5% del PV/día, heno a base de alfalfa (2, % del PV/día) + grano entero de maíz (0,5% del PV/día) y heno a base de alfalfa (1,5% del PV/día) + grano entero de maíz (1% del PV/día). **Experimento II.II:** Efecto del grano entero de maíz sobre la digestibilidad de la fibra utilizando heno base alfalfa *ad libitum*. Las cantidades de maíz entero se suministraron en forma crecientes de 0 al 1,5% del PV. **Experimento II.III:** Efecto del grano molido de maíz sobre la digestibilidad de la fibra utilizando heno base alfalfa *ad libitum*. Las dietas aportadas fueron iguales al experimento anterior excepto la forma de presentación del grano de maíz (molido). En el experimento II.I no se observó un efecto significativo ($p>0,05$) del grano entero de maíz en la dieta sobre el CMST, CMSTD y la DTAIV de la FDN, FDA y PB. El CTFDN, CTFDA y CTPB disminuyó linealmente ($p<0,05$) con la proporción de maíz entero y la DTAIV de la MS consumida aumentó linealmente ($p<0,05$) con el incremento del concentrado. En el experimento II.II si bien no se observó un efecto de la dieta ($p>0,05$) sobre el CMST y CMSTD, se verificó un claro efecto sustitutivo de concentrado por forraje, disminuyendo linealmente ($p<0,05$) el consumo de heno de alfalfa con proporciones de grano entero de maíz entre el 0 y el 1,5 % del PV y en ese mismo sentido disminuyó significativamente ($p>0,05$) el CTFDN, CTFDA y PB. El suministro *ad libitum* del heno de alfalfa permitió verificar la reducción lineal ($p<0,05$) de la F/C. La DTAIV de la MS y de la MO aumento linealmente ($p<0,05$) con el incremento del concentrado en las dietas. Se verificó una disminución lineal ($p<0,05$) de la digestibilidad de la FDA y de la FDN para incrementos de maíz entero de 0 a 1,5 % PV. La DTAIV de la PB no resultó afectada ($p>0,05$) por el aumento de maíz en los

tratamientos. En el experimento II.III no hubo efectos ($p > 0,05$) de la dieta sobre el CMST y CMSTD. El CMSF, CTFDN, CTFA, CTPB y F/C disminuyó linealmente ($p < 0,05$) con cantidades crecientes de grano molido de maíz. La DTAIV de la MS y MO aumentó linealmente ($p < 0,05$) con el contenido del concentrado energético de la dieta. Se observó un efecto cúbico ($p < 0,05$) en la digestibilidad de la FDN y FDA, con un valor mínimo para un tenor del 1 % del PV de maíz molido en la dieta. No se verificó efecto ($p > 0,05$) del maíz molido en las dietas sobre la DTAIV de la PB. No obstante, en todos los experimentos la DTAIV de la MS consumida, resultó mejorada ante la mayor proporción de la fracción más digestible.

Efecto de la suplementación con grano de maíz sobre el pH ruminal y la degradabilidad *in situ* del heno base alfalfa. **Experimento III.I:** Efecto de la incorporación de grano entero de maíz sobre el pH ruminal, en dietas a base de heno alfalfa *ad libitum*. **Experimento III.II:** Efecto de la incorporación de grano molido de maíz sobre el pH ruminal, en dietas a base de heno alfalfa *ad libitum*. Las cantidades de maíz en ambos experimentos se suministraron en forma creciente de 0 al 1,5% del PV. **Experimento III.III:** Efecto del grano molido de maíz sobre la degradabilidad ruminal *in situ* del heno base alfalfa para distintas relaciones F/C (70/30; 50/50; 40/60). **Experimento III.IV:** Efecto de cantidades crecientes de grano de maíz molido sobre la degradabilidad ruminal *in situ* en dietas con heno base alfalfa *ad libitum*. En el experimento I, se observó una tendencia a aumentar linealmente ($p = 0,073$) la superficie del área bajo la curva del pH umbral y el tiempo en horas con valores por debajo de 6 ($p = 0,052$) al aumentar el maíz entero de 0 a 1,5% del PV. El promedio del pH ruminal durante 24 h de medición, no registró efectos ($p > 0,05$) con el incremento del concentrado en la dieta. El pH ruminal mínimo se observó entre las 8 y 12 horas pos ingesta de la ración y con diferencias ($p > 0,05$) entre horas no habiendo un efecto del tratamiento sobre la evolución del pH con el tiempo ($p > 0,05$). En el experimento III.II se verificó un incremento lineal ($p < 0,05$) del área bajo la curva con el aumento de maíz molido en la dieta. Se observó un aumento lineal ($p < 0,05$) de las horas con pH por debajo de 6 al incrementar el concentrado en la dieta. El pH ruminal promedio del día disminuyó linealmente ($p < 0,05$) con el aumento del concentrado. El valor más bajo de pH ruminal se observó entre las 6 y 8 horas pos ingesta de la ración registrándose diferencias ($p < 0,05$) entre horas. No se observó interacción ($p < 0,05$) entre hora y tratamiento. En el experimento III.III la degradabilidad *in-situ* de la MS del heno de

alfalfa aumentó linealmente ($p < 0,05$) con el incremento del grano a las 24 h de su incubación ruminal. A las 48 h no se registraron efectos ($p > 0,05$) entre los tratamientos. La degradabilidad *in-situ* de las fracciones FDN y FDA del heno de alfalfa a las 24 h de incubación ruminal no registró efectos ($p > 0,05$). A las 48 h la degradabilidad *in-situ* de la FDA del heno disminuyó linealmente ($p < 0,05$) y la FDN verificó un comportamiento cúbico ($p < 0,05$) con el incremento de maíz molido de 0 a 1,5 % del PV. En el experimento III.IV la degradabilidad *in-situ* de la MS del heno de alfalfa a las 24 h de incubación ruminal aumentó linealmente ($p < 0,05$) con el incremento de la concentración de maíz molido de 0 a 1,5% del PV y a las 48 h no registrándose diferencias ($p > 0,05$). Las fracciones FDN y FDA del heno de alfalfa registraron efectos cuadráticos ($p > 0,05$) para las 24 y 48 h post incubación ruminal con el aumento de maíz molido en la dieta. Si bien los diferentes niveles de suplementación con grano de maíz influyeron sobre la digestibilidad de la fibra a través de su efecto sobre el área bajo la curva, no fue suficiente como para manifestar sintomatología clínica.

Efecto de PAP-MV sobre diferentes parámetros ruminales y digestibilidad de la fibra. Se asignaron cuatro dosis de PAP-MV (0, 1, 2 y 3 ml/día/cabra) suministradas a una dieta de heno de alfalfa *ad libitum* y maíz molido al 1% PV/cabra/día. **Experimento IV.I:** Efecto de PAP-MV en la degradabilidad ruminal *in situ* de la FDN y FDA. **Experimento IV.II:** Efecto de PAP-MV sobre la población de *Streptococcus bovis*, pH ruminal, N-NH₃ y AGV. **Experimento IV.III:** Uso de PAP-MV como atenuante del efecto depresor del maíz, sobre la digestibilidad de la fibra. En el experimento IV.I no se observaron efectos ($p > 0,05$) en la degradabilidad *in situ* de la MS del heno de alfalfa a las 24 y 48 h post incubación ruminal para un incremento de PAP-MV en la dieta. La degradabilidad ruminal *in situ* de la FDN del heno de alfalfa para la 24 h post incubación registró una tendencia cúbica ($p = 0,090$) y para las 48 h un efecto cúbico ($p < 0,05$) para las dosis PA-PMV probadas. La degradabilidad *in situ* de la FDA del heno de alfalfa para 24 y 48 h de incubación, verificó un efecto cúbico ($p < 0,05$) con el incremento de PAP-MV en las dietas. En el experimento IV.II no se observaron diferencias ($p > 0,05$) en el área bajo la curva para un pH umbral de 5,8. Para un pH umbral de pH 6 se verificó una disminución lineal ($p < 0,05$) en el área bajo la curva y una tendencia ($p = 0,087$) a disminuir linealmente el tiempo en horas con pH por debajo de 6, con el incremento de PAP-MV de 0 a 3 gr/día. Las concentraciones de AGV y N-NH₃ registraron efectos ($p > 0,05$) con el incremento de PAP-MV en la dieta.

Respecto a los valores de Ct (ciclo umbral) obtenidos mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-TR) se verificó una tendencia lineal ($p=0,066$) a aumentar los ciclo de la PCR en el cual la fluorescencia fue detectada con el incremento de PAP-MV en la dieta. El valor de Ct es inversamente proporcional a la cantidad de ADN de *S.bovis*. Experimento IV.III: no se observaron efectos ($p>0,05$) en el CMST/PV, CMSTD, CMSF, CTFDN, CTFDA, CTPB y F/C para la diferentes dosis de PAP-MV probadas. Respecto a la DTAIV de la MS, MO y almidón no se observaron efectos ($p>0,05$) con las dosis de anticuerpos probadas. La DTAIV de PB de la dieta consumida registró un aumento lineal ($p<0,05$) y en la DTAIV de la FDA y FDN se observó una tendencia ($p=0,063$ y $p=0,086$ respectivamente) a un aumento lineal con el incremento de las dosis de PAP-MV. Mediante un análisis de regresión simple se observó una relación significativa ($p<0,05$) entre la DFDA, la DPB y el área bajo la curva de un pH umbral 6, indicando una relación moderadamente fuerte, observándose mayor DFDA y DPB a menor área bajo la curva del pH umbral considerado. Cuando se relacionó la DFDN solo se observó una tendencia ($p= 0,085$). La administración de una preparación de PAP-MV en las condiciones ensayadas afectó los parámetros ruminales con diversa intensidad. Los que resultaron más sensibles a su acción fueron el área bajo la curva, degradabilidad ruminal de la fibra y la digestibilidad total aparente de la proteína. La diferencia entre los parámetros indicadores del metabolismo microbiano y del recuento, sugeriría una acción diferencial del anticuerpo sobre el nivel de actividad bacteriana más que sobre los recuentos en sí.

ABSTRACT

The aim of this thesis was to evaluate the effect of energy supplementation in digestive physiology of cattle and goats using polyclonal antibodies multivalent of avian origin (PAP-MV) as moderator of ruminal parameters.

Experiment II.I: Effect of whole grain corn on the digestibility of dietary fiber consumed for different ratios F C. Three diets were provided: alfalfa hay (2.5% LW/day) (C₀); alfalfa hay (2% LW day) + whole grain corn (0.5% LW/day) (C₁); alfalfa hay (1.5% LW/day) + whole grain corn (1% LW/day) (C₂). In all treatments, the level of DM intake diets was adjusted to 2.5% of LW/day. **Experiment II.II:** Effect of whole grain corn in fiber digestibility in diets using alfalfa hay *ad libitum*. Four diets were provided: Alfalfa hay (D₀); alfalfa hay + whole grain corn (0.5% LW/day) (D₁), alfalfa hay + whole grain corn (1% LW/day) (D₂); alfalfa hay + whole grain corn (1.5% LW/day) (D₃). **Experiment II.III:** Effect of ground grain corn fiber digestibility in diets using alfalfa hay *ad libitum*. The diets contributed were the same as the previous experiment except the form of presentation of the corn grain (ground). In Experiment II.I, a significant ($p > 0.05$) of whole grain corn in the diet on the CMST, CMSTD and DTAIV of the FDN, FDA and PB was observed. The CTFDN, CTFDA and CTPB decreased linearly ($p < 0.05$) with the proportion of whole corn and DTAIV MS consumed increased linearly ($p < 0.05$) with increasing concentration. In Experiment II.III although an effect of diet ($p > 0.05$) on the CMST and CMSTD was observed, a clear substitution effect was verified concentrated by forage, linearly decreasing ($p < 0.05$) consumption of alfalfa hay with proportions of whole grain corn between 0 and 1.5% of LW and in the same vein decreased significantly ($p > 0.05$) the CTFDN, CTFDA and PB. The provision *ad libitum* alfalfa hay allowed to prove the linear reduction ($p < 0.05$) of the F/C. The F/C was different ($p < 0.05$) among the different diets tested. The DTAIV of DM and OM linearly increased ($p < 0.05$) with increasing concentrate diets. Linear decrease ($p < 0.05$) digestibility and FND, FDA for whole corn increases from 0 to 1.5% LW was verified. The DTAIV of PB was not affected ($p > 0.05$) by increasing corn treatments. In the experiment II.III were no effects ($p > 0.05$) of diet on the CMST and CMSTD. The CMSF, CTFDN, CTFDA and CTPB decreased linearly ($p < 0.05$) with increasing amounts of ground corn grain. Linear decrease

($p < 0.05$) F/C was observed. The F/C was different ($p < 0.05$) in each of the diets experienced. The DTAIV MS and MO increased linearly ($P < 0.05$) with the content of energy concentrate diet. Cubic effect ($p < 0.05$) in digestibility of FND and FDA, with a minimum value for a tenor of 1% of LW ground corn in the diet was observed. No effect ($p > 0.05$) of ground corn in diets verified on DTAIV of the PB. However, in all experiments the DTAIVMS consumed, it was improved with the greater proportion of the digestible fraction.

Supplementation with corn: effect on ruminal pH and degradability in situ fiber alfalfa hay. **Experiment III.I:** Effect of incorporating whole grain corn and alfalfa hay on ruminal pH. Four diets were provided: alfalfa hay (D_0), alfalfa hay + whole grain corn (0.5% LW/day) (D_1), alfalfa hay + whole grain corn (1% LW/day) (D_2), alfalfa hay + whole grain corn (1.5% of LW/day) (D_3). **Experiment III.II:** Effect of incorporating whole grain corn and alfalfa hay on ruminal pH. Four diets were provided: alfalfa hay (M_0); alfalfa hay + ground corn grain (0.5% LW/day) (M_1); alfalfa hay + ground corn grain (1% LW/day) (M_2) and alfalfa hay + ground corn grain (1.5% LW/day) (M_3). **Experiment III.III:** Effect of ground grain corn *in situ* ruminal degradability of alfalfa hay for different relations F/C. Four diets were provided: alfalfa hay 100% (D_0), alfalfa hay (70%) + grain of ground corn (30%) (D_1), alfalfa hay (50%) + grain ground corn (50%) (D_2), alfalfa hay (40%) + ground corn grain (60%) (D_3). **Experiment III.IV:** Effect of ground corn grain in the rumen degradability *in situ* in alfalfa hay diets *ad libitum*. Four diets were provided: alfalfa hay (M_0); alfalfa hay + ground corn grain (0.5% LW/day) (M_1); alfalfa hay + ground corn grain (1% LW/day) (M_2) and alfalfa hay + ground corn grain (1.5% LW/day) (M_3). In Experiment III.I, a tendency to linearly increase ($p = 0.073$) the surface area under the curve of pH threshold and the time in hours with values below 6 ($p = 0.052$) by increasing the whole corn 0 observed 1.5% of LW. The mean ruminal pH measurement for 24 h not recorded effects ($p > 0.05$) with the increase of concentrate in the diet. No differences ($p > 0.05$) between the mean values of the variables analyzed for the different treatments were recorded. The minimum ruminal pH was observed between 8 and 12 hours after ingestion of the ration and difference ($p > 0.05$) between the hours not having a treatment effect on the evolution of pH over time ($p > 0.05$). In Experiment III.II although no differences ($p > 0.05$) between the mean areas under the curve were observed a significant linear increase thereof with increasing ground corn in the diet it was verified. Increased

linearly ($p < 0.05$) of the hours with pH below 6 by increasing the concentrate in the diet is observed. The average day, ruminal pH decreased verified linear ($p < 0.05$) with the increase of the concentrate. The lowest value was observed ruminal pH between 6 and 8 hours after ingestion of the ration by registering differences ($p < 0.05$) between hours. No interaction ($p < 0.05$) between time and treatment was observed. In experiment III.III, the *in situ* degradability of alfalfa hay MS, increased linearly ($p < 0.05$) with increasing grain at 24 h of ruminal incubation. 48h post ruminal incubation FDA hay decreases linearly ($p < 0.05$) and FDN verified a cubic behavior ($p < 0.05$) with increasing corn milled from 0 to 1.5% of LW. In experiment III.IV no effects ($p > 0.05$) in the CMST and they observed the F/C verified a linear decrease ($p < 0.05$) with increasing dietary concentrate. The *in situ* dry alfalfa hay at 24 h incubation ruminal degradability of increased linearly ($p < 0.05$) with increasing concentration of ground corn from 0 to 1.5% of LW and 48 h recording no differences ($p > 0.05$). FDN and FDA alfalfa hay fractions showed quadratic effects ($p > 0.05$) for 24 and 48 h post ruminal incubation with increasing ground corn in the diet. The different levels of corn supplementation influenced the digestibility of the fiber through its effect on the area under the curve, without manifesting clinical symptomatology.

Effect of PAP-MV on different ruminal parameters and fiber digestibility: Four doses of PAP-assigned MV (0, 1, 2 and 3 ml / day / goat) supplied to a diet ad libitum alfalfa hay and ground corn 1% LW / goat / day. **Experiment IV.I:** Effect of PAP-MV on ruminal *in situ* degradability of NDF and FDA. **Experiment IV.II:** Effect of PAP-MV on *S. bovis*, ruminal pH, N-NH₃ and AGV. **Experiment IV.III:** Use of PAP-MV as an attenuating effect of corn depressant effect on fiber digestibility. In experiment IV.I no effect ($p > 0.05$) was observed on the *in situ* degradability of alfalfa hay DM at 24 and 48 h post ruminal incubation for an increase in PAP-MV in the diet. *In situ* ruminal degradability of NDF alfalfa hay for 24 h post incubation verified a cubic trend ($p = 0.090$) for 48 h and a cubic effect ($p < 0.05$) for PA-PMV doses tested. Degradability *in situ* FDA hay for 24 and 48 h of incubation, verified a cubic effect ($p < 0.05$) with increasing PAP-MV in diets. In experiment IV.II no differences ($p > 0.05$) were observed in the area under the curve for a threshold pH of 5.8. For a threshold pH of pH 6 a linear decrease ($p < 0.05$) was observed in the area under the curve and a trend ($p = 0.087$) decrease linearly with time in hours pH below 6, with increasing PAP-MV 0 to 3 g/day. Concentrations of AGV and N-NH₃ no effects were observed ($p > 0.05$) with the

increase of PAP-MV in the diet. A linear tendency ($p=0.066$) to increase the PCR cycle in which the fluorescence was detected with the increase of PAP-MV in the Ct (threshold cycle) values obtained by the RT-PCR technique was verified diet. The value of Ct is inversely proportional to the amount of *S.bovis* DNA. Experiment IV.III: there were no effects ($p>0.05$) on the CMST/PV, CMSTD, CMSF, CTFDN, CTFDA, CTPB and F/C for the different doses of PAP-MV tested. Regarding the DTAIV of DM, MO and starch no effects ($p>0.05$) with the doses of antibodies tested. The DTAIV of PB of the diet consumed registered a linear increase ($p<0.05$) and in the DTAIV of the FDA and NDF a trend was observed ($p=0.063$ and $p=0.086$ respectively) to a linear increase with the increase of the dose of PAP-MV. A simple regression analysis showed a significant ($p<0.005$) relationship between the DFDA, the DPB and the area under the curve of a threshold pH 6, indicating a moderately strong relationship, with greater DFDA and DPB being observed in a smaller area under the curve of the threshold pH considered. When the DFDN was related only a trend was observed ($p=0.085$). Administration of a PAP-MV preparation under the conditions tested affected the ruminant parameters with varying intensity. Those that were most sensitive to their action were the area under the curve, rumen degradability of the fiber and total apparent digestibility of the protein. The difference between the parameters indicative of microbial metabolism and counting would suggest a differential action of the antibody on the level of bacterial activity rather than on the counts. Beyond the effects described, the incorporation of PAP-MV in diets for goats did not provide any effect that could affect ruminal health.

ÍNDICE

	Páginas
ABREVIATURAS	22
CAPITULO I:	24
• INTRODUCCIÓN GENERAL	25
• OBJETIVOS GENERALES Y PARTICULARES	32
• HIPÓTESIS	33
• BIBLIOGRAFÍA	34
 CAPITULO II: Efecto del nivel, grado de procesamiento del suplemento y disponibilidad del forraje sobre la digestibilidad total aparente de la MS consumida y de la fibra.	 41
• INTRODUCCIÓN	42
• MATERIALES Y MÉTODOS	44
• Experimento II.I: Efecto del grano entero de maíz sobre la digestibilidad de la fibra de la dieta consumida para distintas relaciones F/C.	44
• Experimento II.II: Efecto del grano entero de maíz sobre la digestibilidad de la fibra en dietas con heno base alfalfa <i>ad libitum</i> .	46
• Experimento II.III: Efecto del grano molido de maíz sobre la digestibilidad de la fibra en dietas utilizando heno base alfalfa <i>ad libitum</i> .	47
• RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
• CONCLUSIÓN	52
• BIBLIOGRAFÍA	53

CAPÍTULO III: Efecto de la suplementación con grano de maíz sobre el pH ruminal y la degradabilidad <i>in situ</i> de la fibra del heno base alfalfa.	69
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------

• INTRODUCCIÓN	70
• MATERIALES Y MÉTODOS	73
• Experimento III.I: Efecto de la incorporación de grano entero de maíz en dietas a base de heno alfalfa, sobre pH ruminal.	73
• Experimento III.II: Efecto de la incorporación de grano molido de maíz en dietas a base de heno alfalfa, sobre el pH ruminal.	73
• Experimento III.III: Efecto del grano de maíz molido sobre la degradabilidad ruminal <i>in situ</i> del heno base alfalfa para distintas relaciones F/C.	74
• Experimento III.IV: Efecto del grano de maíz molido sobre la degradabilidad ruminal <i>in situ</i> del heno base alfalfa suministrado al <i>ad libitum</i> .	75
• RESULTADOS Y DISCUSIÓN	77
• CONCLUSIÓN	81
• BIBLIOGRAFÍA	82

CAPÍTULO IV: Efecto de anticuerpos policlonales multivalentes de origen aviar (PAP-MV) en el metabolismo ruminal, utilizando dietas con heno base alfalfa <i>ad libitum</i> y grano molido de maíz.	101
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------

• INTRODUCCIÓN	102
• MATERIALES Y MÉTODOS	106
• Experimento IV.I: Efecto de anticuerpos policlonales multivalentes de origen aviar sobre la degradabilidad ruminal <i>in situ</i> de la FDN y FDA.	108
• Experimento IV.II: Efecto de PAP-MV, sobre parámetros de fermentación ruminal (pH, nitrógeno amoniacal, ácidos grasos volátiles) y la población microbiana.	109

• Experimento IV.III. Uso del PAP-MV de origen aviar como atenuante del efecto depresor del maíz, sobre la digestibilidad de la fibra.	111
• RESULTADOS Y DISCUSIÓN	112
• CONCLUSIÓN	117
• BIBLIOGRAFÍA	118
CONSIDERACIONES FINALES	154
TRABAJOS PUBLICADOS	156

ÍNDICE DE TABLAS, FOTOS Y FIGURAS (CAPÍTULO II)

	Páginas
• Tabla II.1. Composición química de los alimentos del experimento I.	58
• Tabla II.2. Composición química de la dieta según tratamiento.	59
• Tabla II.3. Composición química de los alimentos.	60
• Tabla II.4. Contrastes ortogonales polinomiales para determinar efectos L, Q y análisis de comparación de medias para evaluar la incidencia de la suplementación con grano entero de maíz y heno base alfalfa, para distintas relaciones F/C sobre el CMST, CMSTD, CTFDA,CTFDN, CTPB, DTAIVde la MS, FDA, FDN y PB.	61
• Tabla II.5. Contrastes ortogonales polinomiales para determinar efectos L, Q y C y análisis de comparación de medias en la suplementación con grano entero de maíz y heno base alfalfa <i>ad libitum</i> sobre CMST/PV, CMSTD, CMSF, CTFDA, CTFDN, CTPB y F/C.	62
• Tabla II.6. Composición química de la dieta según tratamiento	63
• Tabla II.7. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos L, Q, C y análisis de comparación de medias en la suplementación con grano entero de maíz y heno base alfalfa <i>ad libitum</i> sobre la DTAIV de la MS, MO, FDA, FDN y PB.	64
• Tabla II.8. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos L, Q y C y análisis de comparación de medias en la suplementación con maíz molido y heno de alfalfa <i>ad libitum</i> sobre el CMST/PV, CMSTD, CMSF, CTFDA, CTFDN, CTPB, y F/C.	65

- **Tabla II.9.** Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos L, Q, C y análisis de comparación de medias en la suplementación con grano molido de maíz y heno base alfalfa *ad libitum*, sobre la DTAIV de la MS, MO, FDA, FDN y PB. **66**
- **Foto II.1.** Jaulas de digestibilidad. **67**
- **Foto II.2.** Sistema de bolsa recolectora de materia fecal. **68**

ÍNDICE DE TABLAS, FOTOS Y FIGURAS (CAPÍTULO III)

	Páginas
• Tabla III.1. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos L, Q y C sobre el pH ruminal, utilizando maíz entero y heno de alfalfa <i>ad libitum</i> .	91
• Tabla III.2. Efecto del tiempo (h) sobre el pH ruminal durante 12 h post alimentación utilizando maíz entero como concentrado energético.	92
• Tabla III.3. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos L, Q, C y análisis de medias en el pH ruminal, utilizando maíz molido y heno de alfalfa <i>ad libitum</i> en la dieta.	93
• Tabla III.4. Efecto del tiempo (h) sobre el pH ruminal durante 12 h post alimentación utilizando maíz molido como concentrado energético.	94
• Tabla III.5. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos L, Q, C y análisis de comparación de medias sobre la degradabilidad <i>in-situ</i> de la MS, FDN y FDA del heno de alfalfa, utilizando maíz molido en una dieta ajustada a un % del PV	95
• Tabla III.6. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos L, Q, C y análisis de comparación de medias sobre la degradabilidad <i>in-situ</i> de la MS, FDN y FDA del heno de alfalfa, utilizando maíz molido y heno de alfalfa <i>ad libitum</i>	96
• Foto III.1. Cabras fistuladas ruminalmente con cánulas permanentes.	97

- **Foto III.2.** Bolsas de degradabilidad ruminal **98**
- **Figura III.1.** Valores de pH ruminal durante las 24 h de medición utilizando maíz entero como suplemento energético **99**
- **Figura III.2.** Valores de pH ruminal durante las 24 h de medición utilizando maíz molido como suplemento energético. **100**

ÍNDICE DE TABLAS, FOTOS Y FIGURAS (CAPÍTULO IV)

- **Tabla IV.1.** Ingredientes y composición química de PAP-MV. **126**
- **Tabla IV.2.** Primers utilizados en la técnica de PCR-TR. **127**
- **Tabla IV.3.** Protocolo de ciclado de PCR en tiempo real. **128**
- **Tabla IV.4.** Ingredientes de la premezcla para cada reacción de PCR en tiempo real. **129**
- **Tabla IV.5.** Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos L, Q, C y análisis de comparación de medias sobre la degradabilidad *in-situ* de la MS, FDN y FDA del heno de alfalfa, utilizando maíz molido y distintas dosis de PAP-MV. **130**
- **Tabla IV.6.** Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos L, Q, C y análisis de comparación de medias sobre el pH ruminal, para las distintas dosis de PAP- MV. **131**
- **Tabla IV.7.** Efecto del tiempo (h) sobre el pH ruminal durante 12 h post alimentación utilizando PAP-MV en las dietas. **132**
- **Tabla IV.8.** Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos L, Q, C y análisis de comparación de medias sobre los AGV y N-NH₃ para las distintas dosis de PAP- MV. **133**
- **Tabla IV.9.** Efectos de las horas, el tratamiento e interacción hora*tratamiento sobre el C₂, C₃, C₄, C₂_C₃ y AGVt. **134**

- **Tabla IV.10.** Efecto de las dosis de PAP-MV sobre el ciclo de amplificación en que una fluorescencia es detectada y correlacionada con la cantidad de ADN de *S. bovis*. **135**

- **Tabla IV.11.** Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos L, Q, C y análisis de comparación de medias de las distintas dosis de PAP-MV sobre el CMST/PV, CTMSD, CMSF, CTFDN, CTFDA, CTBP y F/C. **136**

- **Tabla IV.12.** Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos L, Q, C y análisis de comparación de medias de la distintas dosis de PAP-MV sobre la DTAIVMS, DTAIVMO, DTAIVALM, DTAIVFDA, DTAIVFDN, y DTAIVPB. **137**

- **Tabla IV.13.** Análisis de varianza. Correlación entre la DFDA y el área bajo la curva. **138**

- **Tabla IV.14.** Análisis de varianza. Correlación entre la DFDN y el área bajo la curva. **139**

- **Tabla IV.15.** Análisis de varianza. Correlación entre la DPB y el área bajo la curva. **140**

- **Figura IV.1.** Curva de calibración para las diferentes diluciones de ADN de *S. Bovis*. **141**

- **Figura IV.2.** Efecto de PAP-MV sobre de pH ruminal durante 24 h de medición. **142**

- **Figura IV.3.** Efecto de PAP-MV sobre los AGVt entre las hora 0 y 6 post alimentación. **143**

- **Figura IV.4.** Efecto de PAP-MV sobre los C2 entre las hora 0 y 6 post alimentación. **144**

- **Figura IV.5.** Efecto de PAP-MV sobre los C3 entre las hora 0 y 6 post alimentación. **145**

- **Figura IV.6.** Efecto de PAP-MV sobre los C4 entre las hora 0 y 6 post alimentación. **146**

- **Figura IV.7.** Efecto de PAP-MV sobre los C2/C3 entre las hora 0 y 6 post alimentación. **147**

- **Figura IV.8.** Efecto del tratamiento sobre la cuantificación de *S. Bovis*. **148**

- **Figura IV.9.** Curvas de ciclos de amplificación en que se detectó una fluorescencia. **149**

- **Figura IV.10.** Curvas de temperatura de disociación en que fue detectada una fluorescencia. **150**

- **Figura IV.11.** Relación entre la DFDA y el pH ruminal expresado como área bajo la curva. **151**

- **Figura IV.12.** Relación entre la DFDN y el pH ruminal expresado como área bajo la curva. **152**

- **Figura IV.13.** Relación entre la DPB y el pH ruminal expresado como área bajo la curva. **153**

ABREVIATURAS

AGV: Ácidos grasos volátiles

C: Cúbico

CMST: Consumo de Materia Seca Total

CMSF: Consumo de Materia Seca de Forraje

CMSMz: Consumo de Materia Seca de maíz

Ct: Ciclo umbral

DTAIV: Digestibilidad Total Aparente In Vivo

DTAIVMS: Digestibilidad Total Aparente In Vivo de la Materia Seca

DTAIVMO: Digestibilidad Total Aparente In Vivo de la Materia orgánica

DTAIVFDA: Digestibilidad Total Aparente In Vivo de la Fibra Detergente Ácida

DTAIVFDN: Digestibilidad Total Aparente In Vivo de la Fibra Detergente Neutro

EE: Extracto Etéreo

FDA: Fibra Detergente Neutro

FDN: Fibra Detergente Ácida

F/C: Relación Forraje Concentrado

FB: Fibra Bruta

L: Lineal

MS: Materia Seca

MO: Materia orgánica

N-NH₃: Nitrógeno amoniacal

PAP: Preparados de Anticuerpos Policlonales de origen aviar

PAP-MV: Preparados de Anticuerpos Policlonales Multivalentes de origen aviar

PB: Proteína Bruta

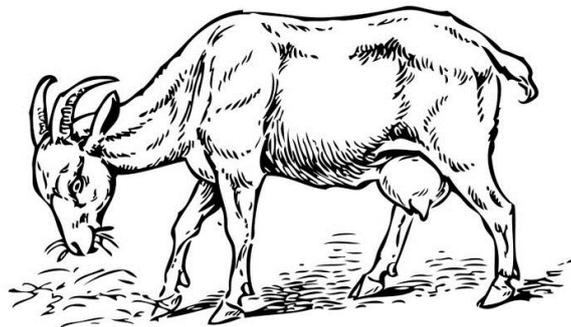
PV: Peso Vivo

Q: cuadrático

TND: Total de Nutrientes Digestibles

CAPÍTULO I

- **INTRODUCCIÓN GENERAL**
- **OBJETIVOS GENERALES**
- **OBJETIVOS PARTICULARES**
- **HIPÓTESIS**



INTRODUCCIÓN GENERAL

Contexto mundial y nacional de la actividad caprina

La domesticación de la cabra dataría de hace más de 10000 años en la antigua Mesopotamia (Reed, 1959). Ha sido una de las especies más útiles al hombre, sobre todo como proveedoras de leche. A excepción del perro, la cabra es el animal doméstico más ampliamente distribuido en el mundo (Arechiga et al., 2008).

Según datos de la FAO la población mundial de cabras, es de unos 816.000.000 de cabezas, proporcionan más de 280,000 toneladas de carne y 12,2 millones de toneladas de leche, constituyendo así una fuente muy importante de alimentos para muchos países (FAO, 2005). La producción de cabras para carne ha crecido en los últimos años, proporcionando nuevas oportunidades de un ingreso adicional sobre una base de una actividad agropecuaria diversificada (Omán et al., 1999; Cameron et al., 2001). La importancia de la caprinocultura se debe a la diversidad de productos que brinda al hombre, a sus notables ventajas económicas ya que con pequeños costos de mantenimiento genera productos de elevada demanda y precio, proporciona ocupación estable y con adecuado manejo permite un sistema sostenible y ecológicamente equilibrado (Boza et al., 1997).

A nivel nacional en el 2012 el stock caprino registrado fue de 4.252.823 cabezas (un 0,09 % superior al declarado en 2010). En 2011 se exportaron 735,8 toneladas de carne caprina a un precio promedio de 2,85 US\$ FOB/kg (ONCCA, 2012).

En la Argentina coexisten dos grandes sistemas de producción caprina. El tradicional, de carácter extensivo, sobre la base de planteles criollos en zonas agroecológicas marginales, donde la rusticidad de la especie es la principal característica. Allí los hatos deben alimentarse del pastizal natural y monte, sin límites precisos y mayormente degradados, con escasez de agua de bebida y poca o nula suplementación, debido a la carencia de infraestructura. Los problemas reproductivos y sanitarios, como consecuencia de la falta de un manejo racional de las explotaciones, representan una seria limitante en la eficiencia de producción en estos sistemas (Nogués, 1990; SAGyP, 1994). Más recientemente, en estos últimos 20 años, surge la presencia de nuevos actores sociales que empiezan a incursionar en la actividad. Se trata de productores con una visión empresarial, donde la principal función objetivo es la rentabilidad de la inversión. Así se observa a profesionales de distintas áreas, que

además de realizar las actividades propias de su profesión, comienzan a orientar parte de su tiempo y de sus ingresos a la producción caprina (Paz, 2001). En este último sistema predominan animales de alto mérito genético, que demandan status sanitarios y nutricionales acordes a sus aptitudes productivas.

Tanto en los sistemas basado en la rusticidad como en aquellos de alto potencial productivo, las particularidades de la cabra, hacen desaconsejable toda recomendación técnica obtenida por extrapolación directa del bovino.

Descripción de la especie caprina.

Según Van Soest (1982), en su libro de ecología del rumiante, clasifica a los rumiantes en tres grupos:

a) Consumidores de concentrados donde incluye a especies como la de los alces, venados y ciervos. Este grupo se caracteriza por consumir principalmente rebrotes de arbustos, en donde los nutrientes (energía y proteína) están concentrados en poca cantidad de fibra. Debido a esto la degradación de este tipo alimento no se da en los compartimentos pregástricos si no en abomaso e intestino, por lo que el rumen se clasifica como simple y el ritmo de alimentación de estos animales es acelerado.

b) Consumidores de forrajes en donde ubica a los ovinos y a los bovinos. Estos animales a diferencia de los del grupo anterior presentan un compartimiento ruminal muy desarrollado, debido a su alta capacidad para degradar fibra, utilizando para esto la fermentación que llevan a cabo la microbiota ruminal y el proceso de rumia, por lo que el ritmo de alimentación es muy lento.

c) Consumidores intermedios en donde están clasificadas las cabras tanto domésticas como salvajes. Las cabras debido a su alta capacidad para adaptarse a condiciones ambientales adversas, se pueden ubicar tanto en el grupo de consumidores de concentrados (si hay gran cantidad de arbustivas) como en el de los consumidores de forrajes (si las condiciones permiten el crecimiento de pasto), cambiando para esto tanto el tipo de microbios que habitan el rumen como el tipo de papilas ruminales en un periodo de 21 días en promedio. Esta característica también le permite consumir rebrotes y pastos a la vez, por lo que su ritmo de alimentación es intermedio entre los dos grupos mencionados anteriormente. Estas características le permiten a la cabra

soportar mayor cantidad de leguminosas en su dieta que la que pueden tolerar los ovinos y bovinos, ya que no tiene una tasa de fermentación tan elevada como esas dos especies.

Por lo tanto, los consumidores intermedios o también denominados, consumidores oportunistas (Papachristou, 1994; Fedele et al., 1999), cambian su conducta de alimentación de acuerdo a las variaciones estacionales de la disponibilidad de la dieta y son mucho más versátiles que las otras dos categorías de animales. Por lo tanto la cabra sería clasificada como un consumidor intermedio u oportunista.

La boca de la cabra posee una movilidad del labio superior tal que mejora la capacidad de prehensión de los alimentos. La actividad masticatoria ocasiona una reducción del tamaño de partícula, lo que favorece el ataque microbiano al alimento y en comparación con las ovejas las cabras tienen una mayor capacidad para reducir el tamaño de partícula durante la masticación. De hecho, un estudio comparativo mostró que el número total de los movimientos de la mandíbula no fue diferente entre las especies, pero las cabras tuvieron un tamaño de partícula menor en su bolo ingestivo (Abijaoudé et al., 2000; Hadjigeorgiou et al., 2003).

Gioffredo & Petryna (2010), explican esta ubicación intermedia de la cabra entre los consumidores de hierbas y forrajes y los oportunistas salvajes, al menor desarrollo relativo de su rumen y al mayor tamaño del esfínter retículo-omasal. Esto provocaría un menor tiempo de retención de las partículas del alimento, permitiendo una rápida tasa de pasaje determinando una menor digestibilidad real de la dieta y un nivel elevado de consumo que otros rumiantes.

En el rumen de las cabras a menudo hay alta concentración de amoníaco, incluso cuando se utilizan dietas pobres en proteínas, lo que puede deberse a: (i) el bajo consumo de agua, lo que limita la dilución de amoníaco, y (ii) una buena eficiencia en el reciclaje de la urea, debido a la alta permeabilidad del epitelio del rumen. La cantidad de urea reciclada varía desde 0,4 hasta 9,7 g / día, dependiendo de la ingesta de nitrógeno y el estado fisiológico de los animales, pudiendo proporcionar hasta el 20% de los requerimientos de proteína degradable en rumen (Brun-Bellut et al., 1991).

Las cabras, en comparación con los ovinos, tienen una gran capacidad para utilizar dietas de baja digestibilidad (alto contenido en fibra) debido a un mayor consumo de materia seca (Domingue et al., 1991). Podría sustentarse, el carácter consumidor oportunista de la cabra sobre la base de que: (i) son buenos consumidores selectivos, (ii) tienen una actividad eficiente de la masticación y del rumen; (iii) son

capaces de aprovechar tanto dietas ricas en fibra por una ampliación considerable del aparato digestivo, como así también en concentrados, (iv) pueden tolerar el bajo consumo de agua, (v) tiene las glándulas parótidas de gran tamaño en relación con su peso corporal, elevada secreción de saliva con altas cantidades de proteína rica en prolina, la cual se une fácilmente a los taninos condensados (TC), dejando menor proporción disponible para unirse a las proteínas en el rumen, haciéndola a esta especie más tolerantes a los TC que los ovinos y bovinos (Vaithyanathan et al., 2001), (vi) alta superficie de absorción de gran parte del epitelio del rumen, que protegen al animal del riesgo de acidosis (Silanikove, 2000). Grilli et al. (2013, 2014) reportaron el aislamiento de dos cepas bacterianas a partir del rumen de cabras Criollas alimentadas con especies forrajeras nativas. La caracterización bioquímica y genética permitió la designación de estas cepas a las especies *Pseudobutyrvibrio xylanivorans* y *Pseudobutyrvibrio ruminis*. Los diversos biotipos de *Butyrvibrio* sp y las especies bacterianas relacionadas con los butirivibrios representan una proporción significativa de las bacterias cultivables del rumen en los rumiantes domésticos y salvajes alimentados con dietas de baja calidad nutricional. Existe diferencias interespecies en el ambiente ruminal como mayor número de bacterias celulolíticas mayor síntesis de proteína microbiana en cabras que en ovejas (Hadjipanayiotou & Antoniou, 1983).

Debido a estas características, las cabras pueden adaptarse a una amplia gama de condiciones de alimentación, modificando su conducta alimenticia de acuerdo a la disponibilidad de forrajes o concentrados, siendo más versátiles que otros rumiantes domésticos, pudiéndose adaptar tanto a pasturas pobres como a dietas ricas y balanceadas (Provenza et al., 2003). Por estas razones pueden ser utilizadas tanto en sistemas extensivos como intensivos donde usualmente se emplean razas especializadas; por todas estas características, la formulación de dietas para caprinos no debiera ser una extrapolación de las recomendaciones nutricionales para el ganado bovino (Lu et al., 2005; Rapetti & Bava, 2008).

Suplementación con alimentos concentrados y sus efectos:

Si bien la cabra es un rumiante y tiene al forraje como principal fuente de fibra, en situaciones de alta producción este podría resultar insuficiente para satisfacer sus necesidades nutritivas. Muchos autores han indicado que forrajes de alta calidad, en cabras lecheras, pueden satisfacer las necesidades de producción de leche de 2.5 a 3 kg

por día, pero para una producción de más de 3 kg /día es necesario emplear, cantidades adecuadas de concentrados (Masson et al., 1991).

La inclusión de concentrados permitiría aumentar la digestibilidad total de la dieta por la inclusión de una fracción más digestible que el forraje. Sin embargo, la interacción entre concentrados y forraje pueden afectar la digestión de la fibra. La energía provista por el concentrado (carbohidratos fermentables) puede resultar en reducciones del pH ruminal, disminuir la actividad o el número de bacterias celulolítica, reducir la tasa de digestión de la fibra del forraje y reducir el consumo total de materia seca (Dixon & Stockdale, 1999). El grado en que estos concentrados modifican la digestión de la fibra puede depender de su naturaleza y proporción, como así también de la calidad del forraje consumido (Matejovsky & Sanson, 1995).

La eficiencia del uso del nitrógeno por bacterias ruminales depende de la disponibilidad de energía. Si hay suficiente energía disponible en el rumen, los aminoácidos (derivados de la degradación de la proteína) pueden ser utilizados directamente para la síntesis microbiana. Cuando la energía es limitante, pueden ser utilizados como fuente de energía previa desaminación, disminuyendo su disponibilidad para la síntesis proteica. Por otra parte, una excesiva cantidad de carbohidratos en la dieta puede disminuir el pH del rumen y afectar negativamente el crecimiento de bacterias celulolíticas y la ingesta de materia seca total (Bach et al., 2005).

Diversos autores demostraron, en estudios realizados con corderos y novillos, que un pH ruminal de 6,0 es el umbral crítico por debajo del cual, la actividad celulolítica, la digestión de la fibra y de las proteínas son en gran medida reducidas (Stewart, 1977; Russell & Dombrowski, 1980; Loerch et al., 1983). La acidosis ruminal subaguda SARA (por sus siglas en inglés) se presenta en períodos de depresiones moderadas del pH ruminal (entre 5-5,8) pudiendo ser la duración acorde a un cuadro agudo o crónico (Dirksen & Gründer, 2005; Krause, 2006). Un pH de 5,5 es considerado, por otros autores, el pH umbral por debajo del cual, bacterias como *Streptococcus bovis* modifican su metabolismo y producen mayormente ácido láctico como resultado de la fermentación del almidón (Slyter, 1976; Russell et al., 1981; Owens, 1998; Galyean & Rivera, 2003). Mucho se sabe acerca de SARA en las vacas lecheras, pero muy poco, sobre la incidencia, la etiología y la patogénesis de esta enfermedad en el ganado caprino. Sin llegar al extremo de una acidosis aguda, el efecto depresor de la digestibilidad de la fibra, causado por la suplementación estratégica con

grano, en sistemas de base pastoril, ha sido extensamente documentado en ganado bovino y ovino. Sin embargo dadas las particularidades anatómicas y fisiológicas digestivas de la cabra, anteriormente mencionadas, se considera de interés en este estudio, verificar dicho efecto en la alimentación de esta especie.

Métodos paliativos de la SARA, sus implicancias:

En bovinos se ha establecido que un aumento del pH ruminal ha logrado un incremento en la digestión de la proteína y de la fibra a nivel ruminal (Harrison et al., 1976; Stewart, 1977; Rogers et al., 1982; Okeke et al., 1983).

La inclusión de ionóforos como aditivo en la alimentación de rumiantes, se ha convertido en una práctica común para aumentar la eficiencia y la productividad en las dietas con importantes cantidades de concentrados para evitar el sobre-consumo y la acidosis ruminal (Russell & Strobel, 1989; Raun et al., 1976; Pordomingo et al., 1999).

El modo de acción de la monensina como ionóforos es múltiple, en primer lugar afectan las poblaciones bacterianas en el rumen, promueven un mayor rendimiento energético de la dieta a través de la formación de ácidos débiles reducidos (propiónico vs acético), reducen la metanogénesis, la tasa de proteólisis ruminal y la población de protozoos. Se le atribuye poder bactericida sobre la base de su intervención en el balance de algunos minerales y en su absorción por las bacterias del rumen afectando la bomba de sodio y potasio. Además reducen las poblaciones de coccidios y la degradación de vitaminas y provitaminas (Santini & Di Marco, 1983; Church, 1988; Pordomingo, 1990; Duff et al., 1994).

La creciente preocupación sobre el uso de antibióticos en la ganadería, en las últimas cuatro décadas, ha dado lugar en algunos países, a la prohibición del uso de antimicrobianos o ionóforos (Houlihan & Russell, 2003). En la Directiva 70/524/CEE del Consejo de la Unión Europea y en sus posteriores modificaciones, a partir del 1 de enero del 2006 prohibió el uso de ionóforos (monensina – lasalocid) en la alimentación animal, excepto en aves incorporados como anticoccidios. La prohibición del uso se basa, esencialmente, en la peligrosidad de estas sustancias por su capacidad para crear resistencias cruzadas con los antibióticos utilizados en medicina humana. Sin embargo, desde algunos sectores se apuntan otras razones, como son la existencia de intereses comerciales y la posibilidad de bloquear así la importación de productos animales procedentes de países en los que el uso de estas sustancias está permitido (Barreras

para-arancelarias). Las últimas crisis provocadas por la aparición de la encefalopatía espongiiforme bovina en el Reino Unido, la contaminación por dioxinas en Bélgica y el escándalo asociado al uso de lodos procedentes de aguas residuales en Francia, han sensibilizado a los consumidores europeos con el mensaje de que la seguridad de los alimentos de origen animal empieza por la seguridad de los alimentos para los animales, incluidos los aditivos. Debido a la importancia del impacto económico de los ionóforos en la alimentación animal, fue necesario desarrollar nuevos aditivos, que realicen funciones similares a los mismos sin generar resistencia (Newbold, 2007).

El concepto de inmunidad es una herramienta potencial en la manipulación de la fermentación ruminal (Hardy, 2002; Berghman & Waghela, 2004). Se ha observado en ovejas alimentadas con una dieta energética e inmunizadas contra *Streptococcus bovis*, vía intramuscular, valores más elevados de ingesta de materia seca y pH ruminal e inferiores concentraciones de lactato (Gill et al., 2000). En este sentido se han usado recientemente preparados de anticuerpos policlonales de origen aviar (PAP) en bovinos.

Las dosis orales de estos anticuerpos (PAP) contra *Streptococcus bovis* y *Fusobacterium necrophorum* fueron eficaces en la reducción de los recuentos de estas bacterias, en novillos alimentados con dietas que incluían granos (DiLorenzo et al., 2006; DiLorenzo et al., 2008). La reducción en el recuento de *S. bovis*, produjo un efecto modulador de pH, lo cual podría provocar una mayor digestibilidad de la fibra, sin embargo aún no se han evaluado parámetros de digestibilidad *in vivo* en estos experimentos. Asimismo, a pesar de los efectos moduladores de pH, otros parámetros de fermentación ruminal no fueron modificados con la adición de PAP específicos contra *S. bovis*, lo cual podría indicar el alto grado de resiliencia de este ecosistema.

Hasta el presente sólo mediante fermentaciones *in vitro* se han probado anticuerpos formulados contra una variedad de Inmunógenos, llamados anticuerpos policlonales multivalentes de origen aviar (PAP-MV) como alternativa al uso del PAP, los cuales han arrojado resultados promisorios en estas determinaciones (DiLorenzo et al., 2007), sin embargo ninguno de estos productos ha sido ensayado en cabras.

Implicancia del uso de PAP-MV en este estudio:

Las cabras tienen un comportamiento alimenticio diferente, por esta razón ciertos conocimientos obtenidos de otros rumiantes, como se mencionó anteriormente, no pueden ser extrapolados a esta especie. Dadas las diferencias y semejanzas en la

fisiología digestiva de caprinos y bovinos, merece ser investigado en detalle el efecto de dietas con altos niveles de concentrados energéticos sobre el ambiente ruminal de la cabra, así como la acción del PAP-MV sobre la digestibilidad de la fibra y el pH ruminal.

Así también es necesario realizar una dosificación adecuada de estos anticuerpos específicos en esta especie. El desarrollo de nuevas tecnologías, ofrece una herramienta muy útil para contribuir a sostener la competitividad de la producción ganadera. La población mundial de cabras ha aumentado un 39 % entre 1986 y 2000 (FAO, 2008), pero las investigaciones en el área de la nutrición caprina no han acompañado este incremento, siendo escasas comparadas con lo realizado en otras especies animales (Cerrillo et al., 1999; Yáñez-Ruiz et al., 2004).

OBJETIVO GENERAL:

El objetivo general de este trabajo es evaluar los efectos de los anticuerpos policlonales multivalentes de origen aviar, sobre el metabolismo ruminal en caprinos alimentados con dietas a base de forraje y grano de maíz.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- a) Evaluar el efecto de la suplementación con grano de maíz en dietas a base de forraje y establecer el nivel a partir del cual comienza a deprimirse la digestibilidad de la fibra.
- b) Evaluar el efecto de la suplementación con grano de maíz en dietas a base de forraje, sobre el pH ruminal y la degradabilidad *in situ* de la MS del forraje en general y de la fibra en particular.
- c) Evaluar diferentes dosis de PAP-MV sobre los parámetros ruminales (pH ruminal, microflora ruminal, AGV y N-NH₄) en dietas a base de forraje y grano de maíz

- d) Evaluar diferentes dosis de PAP-MV sobre degradabilidad *in situ* de la MS del forraje en general y de la fibra en particular en dietas a base de forraje y grano de maíz.
- e) Evaluar diferentes dosis de PAP-MV sobre la digestibilidad total aparente de la MS consumida y de la fibra en dietas a base de forraje y grano de maíz.

HIPÓTESIS A PROBAR:

El uso de anticuerpos policlonales multivalentes de origen aviar, disminuye el efecto depresor de la suplementación del maíz sobre la digestibilidad de la fibra, en caprinos que consumen dietas a base de forraje.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Abijaoudé, J.A., P. Morand-Fehr, J. Tessier, P. Schmidely & D. Sauvant.** 2000. Influence of forage: concentrate ratio and type of starch in the diet on feeding behaviour, dietary preferences, digestion, metabolism and performance of dairy goats in mid lactation. *Animal Science*. 71: 359–368.
2. **Aréchiga C.F., C.A. Aguilera, C.F. Rincón, J.I. Méndez de Lara, S. Bañuelos, V.R. Meza-Herrera.** 2008. Situación actual y perspectivas de la producción caprina ante el reto de la globalización. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*: 9 (1) 1-14.
3. **Bach, A., S. Calsamiglia & M.D. Stern.** 2005. Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Sci.* 88: 9–21.
4. **Berghman, L. R. & S. D. Waghela.** 2004. Antibodies: an alternative for antibiotics? *J. Anim. Sci.* 82: 82. (Abstr.)
5. **Boza, J., A.B. Robles, P. Fernández, F.F. Bermúdez & J.L. González Rebollar.** 1997. Planificación ganadera de pastos de zonas desfavorecidas. XXXVII Reunión científica de la Sociedad Española para el estudio de los pastos. Sevilla-Huelva: pp. 5-9.
6. **Brun-Bellut, J., J.E. Lindberg & M. Hadjipanayiotou.**1991. Protein nutrition and requirements of adult dairy goats. In: Mohrand-Fehr, P. (ed.) *Goat Nutrition*. Pudoc, Wageningen, The Netherlands. pp. 82–93.
7. **Cameron, M. R., J. Luo, T. Sahl, S. P. Hart, S. W. Coleman, & A. L. Goetsch.** 2001. Growth and slaughter traits of Boer × Spanish, Boer × Angora, and Spanish goats consuming a concentratebased diet. *J. Anim. Sci.* 79:1423–1430.
8. **Cerrillo, M. A., J. R. Russell & M. H. Crump.** 1999. The effects of hay maturity and forage to concentrate ratio on digestion kinetics in goats. *Small Rumin. Res.* 32: 51–60.

9. **Church, D.C.** 1988. The ruminant animal. Digestive physiology and nutrition. Prentice Hall, Englewoods Cliffs, NJ. 641pp.
10. **DiLorenzo, N., C. R. Dahlen, F. Diez-Gonzalez, G. C. Lamb, J. E. Larson, and A. DiCostanzo.** 2008. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on rumen fermentation patterns, performance, and carcass characteristics of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 86:3023-3032.
11. **DiLorenzo, N., C. R. Dahlen, J. E. Larson, R. K. Gill & A. DiCostanzo.** 2007. Effects of feeding a polyclonal antibody preparation against selected rumen bacteria on rumen pH of lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 85:135 (Abstr.).
12. **DiLorenzo, N., F. Diez-Gonzalez & A. DiCostanzo.** 2006. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on ruminal bacterial populations and ruminal pH of steers fed high-grain diets. *J. Anim. Sci.* 84:2178–2185.
13. **Dirksen G. & H.D Gründer.** 2005. *Medicina Interna y Cirugía del Bovino*, Vol. 1, 4^o edición, Inter-medica, Buenos Aires, Argentina.
14. **Dixon, R. M., & C. R. Stockdale.** 1999. Associative effects between forages and grains: consequences for feed utilization. *Aust. J. Agric. Res.* 50:757-773.
15. **Domingue, B.M.F., D.W. Dellow & T.N. Barry.** 1991. Voluntary intake and rumen digestion of low-quality roughage by goats and sheep. *Journal of Agricultural Science.* 117: 111–120.
16. **Duff, G. C., M. L. Galyean, M. E. Branine & D. M. Hallford.** 1994. Effects of lasalocid and monensin plus tylosin on serum metabolic hormones and clinical chemistry profiles of beef steers fed a 90% concentrate diet. *J. Anim. Sci.* 72:1049.
17. **FAO.** 2005. Información Caprina. www.fao.org.

18. **FAO.** 2008. Significant increase in world cereal production forecast for 2008, but prices remain high. Mayo 13, 2008. Disponible en: <http://www.fao.org/newsroom/en/news/2008/1000783/index.html>. Último acceso enero 2015.
19. **Fedele, V., M. Pizzillo, S. Claps, P. Morand-Fehr & R. Rubino.** 1999. Grazing behaviour and diet selection of goats on native pasture in Southern Italy. *Small Rumin. Res.* 11: 305–322.
20. **Galyean, M. L. & J. D. Rivera.** 2003. Nutritionally related disorders affecting feedlot cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 83: 13-20.
21. **Gill, H. S., Q. Shu & R. A. Leng.** 2000. Immunization with *Streptococcus bovis* protects against lactic acidosis in sheep. *Vaccine*; 18:2541-2548.
22. **Gioffredo J. J. & A. Petryna.** 2010. Caprinos: generalidades, nutrición, reproducción e instalaciones. Universidad Nacional de Rio Cuarto. Facultad de Agronomía y Facultad de Veterinaria. 20 p. Publicado en Sitio Argentino de Producción Animal.
23. **Grilli, D.; M.Cerón, S. Paez Lama, V. Egea, L. Schnittger, S. Cravero, M. Sosa Escudero, L. Allegretti & G.N. Arenas.** 2013. Isolation of *Pseudobutyrvibrio ruminis* and *Pseudobutyrvibrio xylanivorans* from rumen of Creole goats fed native forage diet. *Folia Microbiol.* 58: 367-373.
24. **Grilli, D.; J. Kopečný, J. Mrázek, R. Marinšek-Logar, S. Paez Lama, M. Sosa Escudero & G.N. Arenas.** 2014. Identification of GH10 xylanases in strains 2 and Mz5 of *Pseudobutyrvibrio xylanivorans*. *Folia Microbiol.* 59: 507-514.
25. **Hadjigeorgiou, I.E., I.J. Gordon & J.A. Milne.** 2003. Intake, digestion and selection of roughage with different staple lengths by sheep and goats. *Small Ruminant Research.* 47: 117–132.

26. **Hadjipanayiotou M. & T. Antoniou.** 1983. A comparison of rumen fermentation patterns in sheep and goats given a variety of diets. *Journal of Science Food Agriculture.* 34:1319–1322.
27. **Hardy, B.** 2002. The issue of antibiotic use in the livestock industry: what have we learned? *Animal Biotech.* 13:129-147.
28. **Harrison, D. G., D. E. Beever, D. J. Thomson & D.F. Osbourn.** 1976. Manipulation of fermentation in the rumen. *J. Sci. Food Agr.* 27:617.
29. **Houlihan, A. J., & J. B. Russell.** 2003. The susceptibility of ionophore-resistant *Clostridium aminophilum* F to other antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother.* 52:623-628.
30. **Krause, M. & G. Oetzel.** 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review, *Animal Feed Science and Technology*; 126:215-236.
31. **Loerch, S. C., L. L. Berger, D. Gianola & G. C. Fahey, Jr.** 1983. Effects of dietary protein source and energy level on in situ nitrogen disappearance of various protein sources. *J. Anim. Sci.* 56:206-216.
32. **Lu, C. D., J. R. Kawas & O. G. Mahgoub.** 2005. Fibre digestion and utilization in goats. *Small Rumin. Res.* 60:45–52.
33. **Masson, C., R. Rubino & V. Fedele.** 1991. Forage utilization in goats. In: Mohrand-Fehr, P. (ed.) *Goat Nutrition.* Pudoc, Wageningen, The Netherlands. pp. 145–159.
34. **Matejovsky, K. M. & D. W. Sanson.** 1995. Intake and digestion of low-, medium-, and high- quality grass hays by lambs receiving increasing levels of corn supplementation. *J. Anim. Sci.* 73:2156–2163.
35. **Newbold, C. J.** 2007. New products for rumen manipulation. *Br. J. Nutr.* 98:15-16.

- 36. Nogués, E., A. Sotomayor y M. Curotto.** 1994. Desempeño productivo y determinación del hábito dietario de caprinos en el Chaco Serrano Árido.
- 37. Okeke, G. C., J. G. Buchanan-Smith & W. L. Grovum.** 1983. Effects of buffers on ruminal rates of passage and degradation of soybean meal in steers. *J. Anim. Sci.* 56:1393.
- 38. ONCCA.** 2012. Informe mensual de carnes. Octubre 2012. Caprinos.
- 39. Oman, J. S., D. F. Waldron, D. B. Griffin & J. W. Savell.** 1999. Effect of breed-type and feeding regimen on goat carcass traits. *J. Anim. Sci.* 77:3215–3218.
- 40. Owens, F.N. & A.L. Goetsch.** 1988. Ruminal fermentation. In: Church, D.C. The ruminant animal digestive physiology and nutrition. Englewood Cliffs: O. & Books Inc. pp.146-171.
- 41. Papachristou, T.G.** 1994. Foraging behaviour and nutrition of goats grazing on shrublands of Greece. In: Gordon, I.J. and Rubino, R. (eds) *Grazing Behaviour of Goats and Sheep*. Cahiers Options Méditerranéennes. 5: 83–90.
- 42. Paz, R.,** 2001. Lechería caprina en pequeños productores e iniciativas de desarrollo local. En *Revista Realidad Económica* n° 182. Editada por el IADE, Buenos Aires, Argentina. pp. 115-134.
- 43. Pordomingo, A.J.** 1990. Effects of daily and weekly rotations of lasalocid and monensin plus tylosin compared with continuous feeding of ionophores on ruminal fermentation in beef steers fed a 90% concentrate diet. PhD Dissertation, New Mexico State Univ. USA. pp. 1-12.
- 44. Pordomingo, A.J., M. E Galyean, M. E. Branine & A.S. Freeman.** 1999. Effects of daily and weekly rotations of lasalocid and monensin plus tylosin compared with continuous feeding of each ionophore on daily dry matter intake and digest kinetics. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 19:383 – 390.

- 45. Provenza, F.D., J.J. Villalba, L. E. Dziba, S.B. Atwood & R.E. Banner.** 2003. Linking herbivore experience, varied diets, and plant biochemical diversity. *Small Ruminant Research.* 49:257-274.
- 46. Rapetti, L & L. Bava.** 2008. In: Antonello Cannas and Giuseppe Pulina Editores. *Feeding Management of Dairy Goats in Intensive Systems.* Italy, Milan. pp. 221-337.
- 47. Raun, A.P., C.O. Cooley, E.L. Potter, R.P. Rathemacher & L.F. Richardson.**1976. Effect of monensin on feed efficiency of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 43:670-
- 48. Reed, C.A.** 1959. Animal domestication in the prehistoric Near East. *Science.* 130: 1629- 1639.
- 49. Rogers, J. A., C. L. Davis & J. H. Clark.** 1982. Alteration of rumen fermentation, milk fat synthesis, and nutrient utilization with mineral salts in dairy cows. *J. Dairy Sci.;* 65:577.
- 50. Russell, J. B. & D. B. Dombrowski.** 1980. Effect of pH on efficiency of growth by pure cultures of rumen bacteria in continuous culture. *Appl. Environ. Microbiol.* 39: 604.
- 51. Russell, J. B., W. G. Bottje & M. A. Cotta.** 1981. Degradation of protein by mixed cultures of rumen bacteria: Identification of *Streptococcus bovis* as an actively proteolytic rumen bacterium. *J. Anim. Sci.* 53:242-252.
- 52. Russell, J. B. & H. J. Strobel.** 1989. Effect of ionophores on Ruminant Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology.* 55: 1-6.
- 53. SAGPYA.** 1994. Situación del Sector Caprino Nacional. Buenos Aires.
- 54. Santini, F.J. & O.N. Di Marco.** 1983. Monensina. Modo de acción y su efecto sobre el comportamiento productivo del animal. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 3:345-364.

- 55. Silanikove, N.** 2000. The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments *Small Ruminant Research*. 35: 181–193.
- 56. Slyter, L. L.** 1976. Influence of acidosis on rumen function. *J. Anim. Sci.* 43:910-929.
- 57. Stewart, C. S.** 1977. Factors affecting the cellulolytic activity of tureen contents. *Appl. Environ. Microbiol.* 33: 497.
- 58. Vaithyanathan, S., J.P. Mishra, Q. Sheikh & R. Kumar.** 2001. Salivary glands tannins bindin protein of sheepand goat. *Indian Journal Animal Science*. 71: 11-31-1134.
- 59. Van Soest, P.J.** 1982. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 1 ed. Ithaca: Cornell University. Press New York. 374 pp.
- 60. Yanez-Ruiz, D. R., A. Moumen, A. I. Martin-Garcia & E. Molina-Alcaide.** 2004. Ruminal fermentation and degradation patterns, protozoa population, and urinary purine derivatives excretion in goats and wethers fed diets based on two-stage olive cake: Effect of PEG supply. *J. Anim. Sci.* 82:2023–2032.

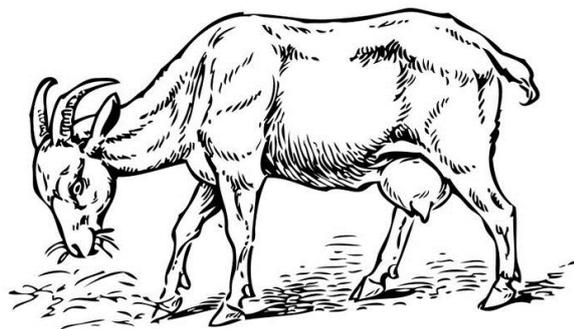
CAPÍTULO II

Efecto del nivel, grado de procesamiento del suplemento y disponibilidad del forraje, en la digestibilidad total aparente de la MS consumida y de la fibra.

Experimento II.I: Efecto del grano entero de maíz sobre la digestibilidad de la fibra de la dieta consumida para distintas relaciones F/C.

Experimento II.II: Efecto del grano entero de maíz sobre la digestibilidad de la fibra en dietas a base de heno de alfalfa *ad libitum*.

Experimento II.III: Efecto del grano molido de maíz sobre la digestibilidad de la fibra en dietas a base de heno de alfalfa *ad libitum*.



INTRODUCCIÓN

La producción extensiva de cabras está basada en la utilización de forraje. La alfalfa se considera un forraje valioso para la alimentación de las cabras por su alto contenido en proteína y una concentración menor de fibra detergente neutro (FDN) en comparación con otras especies forrajeras. El alto contenido de fibra soluble de alta degradabilidad y bajo contenido de FDN tienen un efecto positivo sobre el llenado del rumen y el consumo de materia seca (Rapetti, 2005). Sin embargo, debido al surgimiento de un sistemas más tecnificado, hay una tendencia hacia la intensificación y al aumento del empleo de concentrados para sostener altos niveles de productividad (Castel et al., 2003, Russell & Rychlik, 2001).

Como se mencionó en el capítulo anterior, las cabras cambian su conducta de alimentación de acuerdo a la disponibilidad de forraje o concentrado, y a su capacidad de seleccionar alimentos de alto contenido proteico y digestibilidad (Provenza et al., 2003).

Cuando los rumiantes consumen forraje y reciben suplementos, el consumo de materia seca del forraje generalmente disminuye, lo cual es conocido como tasa de sustitución (Kellaway & Porta, 1993; Stockdale, 2000).

En trabajos realizados con vacas lecheras, para evaluar el efecto de la cantidad de concentrado sobre el consumo de materia seca total, se utilizó 10,4 kg de concentrado por vaca por día, observándose una disminución del 13% en el consumo de forraje, con respecto a dietas sin concentrado. Sin embargo el consumo de materia seca total aumentó un 24% en comparación con dietas de forraje exclusivamente (Bargo et al., 2002, Bargo et al., 2003). Danelón et al. (2010) realizaron un ensayo con cabras de raza Alpina y dietas a base de ensilado de alfalfa y tres tipos de concentrados energéticos en cantidades iguales. Los consumos registrados en los tratamientos con concentrado no fueron diferentes entre sí, aunque el agregado de los mismos redujo el consumo de MS de ensilaje. El promedio total de los tres tratamientos fue de 1.9 kg MS/d compuesto por 1.2 kg MS/d de ensilaje de alfalfa y 0.66 kg MS/d de concentrado.

En cambio Morand-Fehr y Sauvant (1980), encontraron que consumiendo cantidades similares de MS de concentrado (0.64 kg MS/d) cabras lecheras Saanen consumieron un 38% más de forraje (1.7 kg MS/d) alcanzando un 18% más de MS total consumida (2.25 kg MS/d).

La incorporación del grano de maíz en la alimentación de rumiantes aumenta la digestibilidad de la materia seca total consumida (Molina & Alcaide et al., 2000, Fimbres et al., 2002, Rapetti et al., 2004), sin embargo podría disminuir la digestibilidad del forraje (Archimède et al., 1995). Existe cierta controversia sobre el efecto de la adición de concentrados en la digestibilidad de los componentes del forraje, dependiendo del tipo de concentrado, del pH ruminal y de la cantidad total y relativa de los distintos ácidos grasos volátiles. Por ejemplo, alimentos ricos en FDN como henos y pasturas maduras, inducen valores de pH de 6,5 a 6,8, óptimo para la celulólisis con predominio del ácido acético (Aello & Di Marco, 2000). Existen varios trabajos donde se ha constatado que la inclusión de concentrados en la dieta tiene efectos positivos en la digestibilidad del forraje hasta alcanzar una determinada proporción a partir del cual se pierde dicho efecto o incluso es negativo (Chandramoni et al., 2000; Goetsch et al., 2001; Dung et al., 2005; Liu et al., 2005; Lefrileux et al., 2008).

Varios autores señalan que dietas para rumiantes, con elevado contenido de almidón, reducen la digestión de la fibra, debido a una fermentación microbiana de carbohidratos no estructurales, una reducción del pH ruminal y menor actividad celulolítica (Mould & Orskov 1984; Kovacik et al., 1986; Grant & Mertens, 1992; Garces-Yepez et al., 1997).

Moore et al., (2002) no encontraron diferencias significativas en el pH ruminal, la digestibilidad de la FDN y FDA trabajando con cabras Boer y dietas a base de heno de pasto ovillo y una mezcla de concentrados (afrechillo de trigo, cáscara de soja y gluten de maíz) incorporados al 1 % del PV.

Cantalapiedra et al., (2009) ensayaron sobre cabras de raza granadina, dos dietas con diferente proporción de forraje/concentrado (70/30 y 30/70), utilizando heno de alfalfa y una mezcla de grano de cebada, gluten meal, afrechillo de trigo y derivados de soja. Como resultado observaron un aumento de la digestibilidad de la materia seca total del 67% al 74% y de la FDN del 55% al 67%, en las dietas con mayor cantidad relativa de concentrado. Por el contrario no hallaron efecto de las dietas sobre el pH ruminal y la digestibilidad de la proteína bruta.

Por otra parte la inclusión de concentrados con alta cantidad de almidón en dietas a base de forraje, suministradas a cabras cruzadas (criollas x Nubian), disminuyó el pH ruminal por debajo de 6, afectando la degradabilidad ruminal de la fibra del forraje consumido (Arias et al., 2013).

Según Stritzler (2004) la incorporación de concentrados (maíz molido y urea) al 1% del peso vivo en la dieta de ovinos en pastoreo, deprimió la digestión de la fibra.

Ante la diversidad de los resultados obtenidos por diversos autores, surge el interés de establecer fehacientemente el efecto del nivel, grado de procesamiento del suplemento y disponibilidad del forraje, sobre la digestibilidad de la materia seca total y de las diferentes fracciones de la dieta en particular.

MATERIAL Y MÉTODOS

Experimento II.I: Efecto del grano de maíz entero sobre la digestibilidad de la fibra del heno a base de alfalfa para distintas relaciones F/C.

Animales e instalaciones

Se utilizaron 6 cabras cruza (criolla x Nubian), no gestantes y secas, de 5 años de edad y $40,16 \pm 1,07$ Kg de peso vivo (PV) en promedio. El diseño experimental fue un cuadrado latino de 3x3 duplicado, con 7 días de *wash out* entre períodos. Durante el tiempo en que se realizaron las determinaciones, las cabras fueron alojadas en compartimentos individuales (0,80m x 1,50m) con piso rejilla de madera (listones), comederos, pasteras y bebederos automáticos tipo chupete con libre acceso al agua (Foto II.1). Se registró el peso de cada animal al comienzo de cada período.

Tratamientos

Se suministraron 3 dietas: heno a base de alfalfa (2,5% del PV/día) (C_0), heno a base de alfalfa (2, % del PV/día) + grano entero de maíz (0,5% del PV/día) (C_1), heno a base de alfalfa (1,5% del PV/día) + grano entero de maíz (1% del PV/día) (C_2). En todos los tratamientos, el nivel de consumo de materia seca total de las dietas fue ajustado al 2,5% del peso vivo del animal por día (CMST), según NRC (NRC, 2007) para cabras en mantenimiento. Se implementó un período de quince días de acostumbramiento a cada dieta, previo a la toma de las muestras. Las cantidades de maíz se suministraron en forma creciente, iniciando con 70 g por animal por día, hasta alcanzar las proporciones de cada tratamiento al comienzo de la segunda semana del período de adaptación. Las dietas fueron suministradas en una única entrega a las 9 AM

de cada día. Se determinó la MS del heno de alfalfa y del maíz mediante secado en estufa (SOMCIC) a 90-95°C durante 24 horas, (AOAC, 1995).

Se determinó la composición química de los ingredientes utilizados y de las dietas ensayadas (AOAC, 1995) tal como se observa en las Tablas II.1 y II.2.

Determinación del consumo total y de la digestibilidad total aparente in vivo de la MS y de sus fracciones (FDN, FDA y PB).

Se determinó el consumo individual mediante la diferencia entre la cantidad de alimento entregado y rechazado, durante los 4 días de colecta de heces, posteriores al período de acostumbramiento a las diferentes dietas. La MS ofrecida fue corregida a través de un incremento equivalente al rechazo del día anterior. Se calculó también el CMST digestible (CMSTD) y de las diferentes fracciones (FDN, FDA y PB) expresado en Kg/día.

Se colectó y se cuantificó la materia fecal excretada mediante un sistema de bolsa recolectora y arnés (foto II.2). Las mismas fueron vaciadas una vez al día pesando diariamente la totalidad de las heces. Una submuestra constituida por el 10% de lo evacuado por cada animal fue congelado a -20° C para su posterior análisis químico.

Se calculó la digestibilidad total aparente *in vivo* (DTAIV) de la MS consumida y de sus fracciones a partir de la diferencia entre lo ingerido y lo excretado en relación a lo ingerido, expresada en forma porcentual (%).

Análisis químicos

Cada muestra de materia fecal fue compuesta por submuestras de los 4 días de colecta y molidas con un molino de malla 1mm.

Para la determinación de FDA y FDN, se siguió la técnica de Van Soest (1991) modificada por Komarek (1994), utilizando un equipo analizador de fibra marca Ankom modelo 200. Se utilizó α -amilasa termoestable (Sigma A3306) y sulfito de sodio para la determinación de FDN. Se realizó la determinación de nitrógeno total según método de Kjeldahl-N, según AOAC (1995) al que se multiplicó x 6,25 para obtener el valor de PB.

Análisis estadístico

Para evaluar el efecto de niveles crecientes de maíz entero sobre el CMST, CMSTD, CFDN, CFDA, la DTAIV de la MS, MO, FDN, FDA, PB de las diferentes dietas, se utilizó el siguiente modelo:

$$Y = \mu + T + UE + P + e$$

Y: variable dependiente

μ : media general del ensayo

T: tratamiento

UE: unidad experimental

P: período

e: error

Los datos fueron analizados por el procedimiento MIXED del programa estadístico SAS (SAS, 2004), utilizando un modelo mixto que incluyó el efecto fijo del muestreo (tratamiento, periodo) y el efecto aleatorio del animal. Se usaron contrastes ortogonales para determinar efectos lineales (L) y cuadráticos (Q), de niveles crecientes de maíz entero sobre el CMST, CMSTD, CTFDN, CTFDA, la DTAIV de la MS, FDN, FDA y PB de la dieta consumida. Se utilizó el test Tuckey para el análisis de comparación de medias. Se consideró un nivel de significancia de $p < 0,05$ y como tendencias a valores p situados entre 0,05 y 0,10.

Experimento II.II: Efecto de la suplementación con grano entero de maíz sobre la digestibilidad de la fibra en dietas a base de heno de alfalfa *ad libitum*.

Animales utilizados

Se utilizaron 8 cabras cruza (criolla x Nubian), no gestantes y secas, de 5 años de edad y $39,77 \pm 1,07$ Kg de peso vivo (PV) en promedio. El diseño experimental fue un cuadrado latino 4x4 duplicado, con 7 días de *wash out* entre períodos. Durante el tiempo en que se realizaron las determinaciones, las cabras fueron alojadas en compartimentos individuales (0,80m x 1,50m) con piso rejilla de madera (listones), comederos, pasteras y bebederos automáticos tipo chupete con libre acceso al agua. Se registró el peso de cada animal al comienzo de cada período.

Tratamientos

Se suministraron 4 dietas: heno a base de alfalfa (D_0), heno a base de alfalfa + grano entero de maíz (0,5% del PV/día) (D_1), heno a base de alfalfa + grano entero de maíz (1% del PV/día) (D_2) y heno a base de alfalfa + grano entero de maíz (1,5% del PV/día) (D_3). En todos los tratamientos el heno de alfalfa fue suministrado *ad libitum*. Se implementó un período de quince días de acostumbramiento a cada dieta, previo a la toma de las muestras. Las cantidades de maíz se suministraron en forma creciente, iniciando con 70 g por animal por día, hasta alcanzar las proporciones de cada tratamiento al comienzo de la segunda semana del período de adaptación. Las dietas fueron suministradas en una única entrega a las 9 AM de cada día. Se determinó la MS del heno de alfalfa y del maíz mediante secado en estufa (SOMCIC) a 90-95°C durante 24 horas, (AOAC, 1995).

Experimento II.III: Efecto de la suplementación con grano de maíz molido en la digestibilidad de la fibra en dietas a base heno base alfalfa *ad libitum*.

Animales utilizados

Se utilizaron 8 cabras cruza (criolla x Nubian), no gestantes y secas, de 5 años de edad y $41,18 \pm 1,33$ Kg de PV en promedio. Igual que en el experimento II.II, el diseño experimental fue un cuadrado latino 4x4 duplicado, con 7 días de *wash out* entre períodos. Durante el tiempo en que se realizaron las determinaciones, las cabras fueron alojadas en compartimentos individuales (0,80m x 1,50m) con piso rejilla de madera (listones), comederos, pasteras y bebederos automáticos tipo chupete con libre acceso al agua. Se registró el peso de cada animal al comienzo de cada período.

Tratamientos

Se suministraron 4 dietas, heno a base de alfalfa (M_0); heno a base de alfalfa + grano molido de maíz (0,5% del PV/día) (M_1); heno a base de alfalfa + grano molido de maíz (1% del PV/día) (M_2) y heno a base de alfalfa + grano molido de maíz (1,5% del PV/día) (M_3). En todos los tratamientos el heno de alfalfa fue suministrado *ad libitum*.

Se implementó un período de quince días de acostumbramiento a cada dieta, previo a la toma de las muestras. Las cantidades de maíz molido se suministraron en forma creciente, iniciando con 70 g por animal por día, hasta alcanzar las proporciones

de cada tratamiento al comienzo de la segunda semana del período de adaptación. Las dietas fueron suministradas en una única entrega a las 9 AM de cada día. Se determinó la MS del heno de alfalfa y del maíz mediante secado en estufa (SOMCIC) a 90-95°C durante 24 horas, (AOAC, 1995).

Se determinó según AOAC (1995), la composición química de los ingredientes utilizados en el experimento II.II y II.III se observan en la tabla II.3.

Determinación del consumo total y de la digestibilidad total aparente in vivo de la MS y de sus fracciones (FDN, FDA y PB).

Para ambos experimentos (II.II y II.III) se determinó el consumo alimentario individual durante los 4 días de colecta de heces, mediante la diferencia entre la cantidad de alimento entregado y rechazado, posteriores al período de acostumbramiento a las diferentes dietas. Para asegurar el carácter *ad libitum* del suministro, las pasteras se mantuvieron constantemente provistas registrándose las cantidades de heno agregadas para tal fin, utilizando una balanza electrónica marca Systel modelo Croma (peso mín 0,1 Kg peso máx. 30 kg). El heno rechazado fue recolectado y pesado diariamente expresando su valor en kg de MS.

El CMST se obtuvo sumando la materia seca aportada por el heno (CMSF) y por el maíz (CMSMz) expresado como % del PV. Se calculó también el CMST digestible (CMSTD) y de las diferentes fracciones (FDN, FDA y PB) expresado en Kg/día.

La relación F/C fue calculada como la proporción de heno y de concentrado consumido con respecto al CMST.

Para la determinación de la DTAIV de la MS consumida y de sus fracciones (FDN, FDA y PB) se siguieron los mismos procedimientos que en el experimento II.I.

Análisis estadísticos

Para evaluar el efecto de niveles crecientes de maíz entero y molido en el CMST, CMSF, CMSTD, CFDN, CFDA, la DTAIV de la MS, MO, FDN, FDA, PB de las diferentes dietas, se utilizó el siguiente modelo:

$$Y = \mu + T + UE + P + e$$

Y: variable dependiente

μ : media general del ensayo

T: tratamiento

UE: unidad experimental

P: período

e: error

Los datos fueron analizados por el procedimiento MIXED SAS (SAS, 2004) para un cuadrado latino 4×4 replicado, utilizando un modelo mixto que incluyó el efecto fijo del muestreo (tratamiento, periodo) y el efecto aleatorio del animal. Se usaron contrastes ortogonales para determinar efectos lineales (L), cuadráticos (Q) y cúbicos (C) de niveles crecientes de maíz. Se utilizó el test Tuckey para el análisis de comparación de medias. Las diferencias significativa se consideraron con un valor de $p < 0,05$ y las tendencias con un valor de p entre 0,05 y 0,10.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de los resultados obtenidos en el experimento II.I no se pudo constatar un efecto significativo ($p > 0,05$) de la cantidad de maíz entero en la dieta sobre el CMST, CMSTD y la DTAIV de la FDN, FDA y de la PB. El consumo total de FDN, FDA y PB disminuyó linealmente ($p < 0,05$) con la proporción de maíz entero. La DTAIV de la MS consumida aumentó linealmente ($p < 0,05$) con el incremento del concentrado y tal como lo demuestra el análisis de comparación de medias, la DTAIV de la MS de la dieta C_2 fue significativamente mayor a C_0 y C_1 ($p < 0,05$). Los consumos de FDN y FDA difirieron significativamente ($p < 0,05$) entre tratamientos y el CTPB de C_2 y C_1 fue significativamente menor ($p > 0,05$) que C_0 (Tabla II.4).

En el experimento II.II si bien no se observó un efecto de la dieta ($p > 0,05$) sobre el CMST y CMSTD, se verificó un claro efecto sustitutivo de concentrado por forraje, disminuyendo linealmente ($p < 0,05$) el consumo de heno de alfalfa con proporciones de grano entero de maíz entre el 0 y el 1,5 % del PV y en ese mismo sentido disminuyó significativamente ($p > 0,05$) el CTFDN, CTFDA y PB. El suministro *ad libitum* del heno de alfalfa permitió verificar la reducción lineal ($p < 0,05$) de la Relación F/C causado por el mencionado efecto sustitutivo. En un análisis de comparación de medias se observó una reducción significativa ($p < 0,05$) del consumo del heno de alfalfa con porcentajes superiores al 0,5 % del PV (D_2 y D_3). El CTFDN de D_3 y D_2 fue

significativamente menor ($p > 0,05$) que la dieta D_0 y D_1 . La dieta D_3 registró un CTPB significativamente menor ($p > 0,05$) que D_0 y D_1 . En la relación F/C se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las distintas dietas probadas (Tabla II.5). Las proporciones de dichas fracciones de las diferentes dietas consumidas se observan en la tabla II.6.

Con respecto a la DTAIV de la MS y de la MO se observó un aumento lineal significativo ($p < 0,05$) con incremento del concentrado energético en las dietas. A partir del análisis de los coeficientes correspondientes se verificó una disminución lineal significativa ($p < 0,05$) de la digestibilidad de la FDA y de la FDN para incrementos de maíz entero de 0 a 1,5 % PV. La DTAIV de la PB no resultó afectada significativamente ($p > 0,05$) por el aumento de maíz de los tratamientos. En el análisis de comparación de medias, con respecto a la DTAIV de la MS, en D_3 se observó una digestibilidad significativamente mayor ($p < 0,05$) que en D_0 y D_1 . En la dieta D_3 la DTAIV de MO fue significativamente mayor ($p < 0,05$) a la dieta D_0 . Los tratamientos no evidenciaron diferencias significativas ($p > 0,05$), en la DTAIV de la FDA, FDN y PB (Tabla II.7).

En el experimento II.III, no hubo efectos significativos ($p > 0,05$) de la dieta sobre el CMST y CMSTD. Sin embargo el CMSF, CTFDN, CTFA y CTPB disminuyó linealmente ($p < 0,05$) en dietas con cantidades crecientes de grano molido de maíz. Así mismo se observó una disminución lineal significativa ($p < 0,05$) de la relación F/C atribuible a un fenómeno de sustitución. El CMSF y de PB de la dieta M_3 fue significativamente menor ($p < 0,05$) que en los tratamientos M_0 y M_1 . La dieta M_3 verificó un CTFDN y CTFDA significativamente menor ($p > 0,05$) que las otras dietas probadas. La F/C fue significativamente diferente ($p < 0,05$) en cada una de las dietas experimentadas (Tabla II.8).

La DTAIV de la MS y MO aumentó linealmente ($p < 0,05$) con el contenido del concentrado energético de la dieta. Se observó un efecto cúbico significativo ($p < 0,05$) en la digestibilidad de la FDN y FDA, con un valor mínimo para un tenor del 1 % del PV de maíz molido en la dieta. No se verificó un efecto significativo ($p > 0,05$) de las proporciones de maíz molido en las dietas sobre la DTAIV de la PB. La DTAIV de la MS y la MO de la dieta M_3 fue significativamente mayor ($p < 0,05$) que la dieta M_0 y M_1 . El análisis de comparación de medias corrobora el ajuste al modelo cúbico del comportamiento de la DTAIV de la FDN con un valor mínimo de la dieta M_2

significativamente ($p < 0,05$) inferior al de las dietas M_0 y M_1 . En la DTAIV de la FDA se observa la misma tendencia que para la FDN sin ser estadísticamente significativo (Tabla II.9).

Consumo de MS Total y del heno de alfalfa:

En los ensayos que incluyeron heno *ad libitum*, los animales que recibieron mayor proporción de concentrado energético, consumieron menor cantidad de heno debido a un efecto sustitutivo del forraje por el concentrado (Danelón et al., 2010). El mismo estaría basado en la capacidad de las cabras de modificar su conducta alimenticia seleccionando alimentos de alta digestibilidad (Kellaway & Porta, 1993; Stockdale, 2000; Provenza et al., 2003) como parte de su natural adaptabilidad a distintas alternativas de alimentación (Rapetti & Bava, 2008). En los tres experimentos de este capítulo, en disidencia con lo registrado por Bargo (2002, 2003) y Morand-Fehr (1980) los cambios en las proporciones ingeridas de forraje y concentrado no afectaron el consumo de materia seca total. Este fenómeno podría atribuirse a la menor susceptibilidad de la especie a sufrir trastornos ruminales severos, a pesar que en el experimento II.III el grano de maíz fue suministrado molido y en una sola entrega. Hofmann (1989); Duncan & Poppi (2008); Tsiplakou et al, (2011) fundamentan esta característica de los caprinos, en relación a ovinos y bovinos, en su mayor capacidad de absorción de AGV y una tasa de pasaje mayor.

Digestibilidad in vivo de la MS Total consumida y de la fibra:

La DTAIV aumentó con el contenido de maíz en la dieta, debido a que este suplemento posee una elevada proporción de hidratos de carbono no estructurales de alta digestibilidad (Rapetti et al., 2005) y al efecto sustitutivo que se produjo con el agregado del mismo a la ración (Molina & Alcaide et al., 2000, Fimbres et al., 2002). Dicho efecto quedó comprobado por el menor consumo de FDN y FDA en las dietas con mayor proporción del concentrado energético. La digestibilidad de la fibra (FDA y FDN) disminuyó con el incremento del grano de maíz, este fenómeno se debió probablemente a una reducción del pH ruminal y a la actividad celulolítica, causada por el elevado contenido de almidón en la dieta (Archimède et al., 1995, Mould & Orskov 1984, Matejovsky & Sanson 1995). En coincidencia con lo reportado por Moore (2002) y Cantalapiedra (2009), a medida que aumentó la proporción de concentrado en las

dietas, aumentó también la digestibilidad total de las mismas. En el ensayo II.III se verificó una disminución de la digestibilidad de la FDN para inclusiones de maíz crecientes entre el 0% y el 1%, este último correspondiente a una relación F/C de 70/30, equiparable a la citada por Cantalapiedra. Similares resultados obtuvo Stritzler trabajando con ovinos en pastoreo. Posiblemente esto se deba a la combinación de efectos asociativos negativos en el rumen, entre el almidón y la fibra (Zinn & Owens, 1983; Chandramoni et al., 2000; Goetsch et al., 2001; Dung et al., 2005; Liu et al., 2005; Lefrileux et al., 2008).

CONCLUSIÓN

En este capítulo se evaluó el efecto del nivel, grado de procesamiento del suplemento y disponibilidad del heno de alfalfa, sobre la digestibilidad total aparente de la MS consumida en general y de la fibra en particular. Se puede concluir que, respecto al nivel de inclusión de un concentrado energético como el grano de maíz, la digestibilidad total de la materia seca consumida resultó mejorada ante la mayor proporción de la fracción más digestible que aportó dicho concentrado, en detrimento de la digestibilidad de la fracción fibra.

En relación al grado de procesamiento del concentrado, en el experimento que incluyó grano de maíz molido, la incidencia en la disminución de la digestibilidad de la fibra fue mayor, probablemente esto se deba al aumento de la velocidad de hidrólisis del almidón, al haber quedado más expuesto el endosperma a la colonización bacteriana.

La disponibilidad *ad libitum* del heno de alfalfa permitió que el ajuste de la relación F/C sea producto del comportamiento ingestivo propio de la cabra, verificándose un proceso de sustitución.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Aello M., O. Di Marco.** 2000. Digestión y metabolismo ruminal. In Nutrición animal. (ed) Universidad Nacional de Mar del Plata. Facultad de Ciencias Agrarias. Balcarce, Argentina. pp: 65-99.
2. **AOAC.** 1995. Dry mater in Animal Feed. Method number 934.01. In: Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th edn. vol. I. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA, pp, I (Chapter 4).
3. **AOAC.** 1995. Protein (Crude) in Animal Feed. Method number 990.03. In: Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th edn. vol. I. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA, pp, 10-11 (Chapter 4).
4. **Archimède, H., D. Sauvant, J. Hervieu, C. Poncet & M. Dorleans.** 1995. Digestive interactions in the ruminant relationships between whole tract and stomach evaluation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 54:327–340.
5. **Arias, R., M. G. Muro, C.A. Cordiviola, M.S. Trigo, M. Brusa, R. A. Lacchini.** 2013. Incidencia de la proporción de maíz sobre la degradabilidad *in situ* de heno de alfalfa en dietas para caprinos. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata.* 112 (2) 62-67.
6. **Komarek, A. R., J. B. Robertson & P. J. Van Soest.** 1994. Comparison of the filter bag technique to conventional filtration in the Van Soest Analysis of 21 feeds. In: *Proc. Natl. Conf. on Forage Quality, Evaluation and Utilization*, Lincoln, NE. pp.78.
7. **Bargo, F. L. D., J. Muller, J. E. Delahoy & T. W. Cassidy.** 2002. Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances, *J, Dairy Sci.* 85: 1777-1792.

8. **Bargo F., L. D. Muller, Y. Kolver & J.E. Delahoy.** 2003. Invited Review: production and digestión of suplemented dairy cowa on pasture. *J. Dairy Sci.* 86:1–42.
9. **Cantalapiedra-Hijar, G., D. R. Yáñez-Ruiz, A. I. Martín-García & E. Molina-Alcaide.** 2009. Effects of forage: concentrate ratio and forage type on apparent digestibility, ruminal fermentation, and microbial growth in goats. *J Anim Sci.* 87: 622-631.
10. **Castel, J. M., Y. Mena, M. Delgado-Pertíñez, J. Camúñez, J. Basulto, F. Caravaca, J. L. Guzmán & M. J. Alcalde.** 2003. Characterisation of semi extensive goat production systems in Southern Spain. *Small Rumin. Res.* 47: 1–11.
11. **Chandromoni, S., B. Jadhao & M.Y. Tiwari.** 2000. Energy metabolism whit particular reference to methane production in Muzaffarmagari sheep fed rations varying in roughage to concentrate ratio. *Animal Feed Science and Technology.* 83: 287-300.
12. **Danelón, J. L., M. D'Alesio, L. Barletta, P. A. Allocati, M. Wawrzkieicz, E. Ceballos, C. Colatto &D. Victoria.** 2010. Ensilaje de alfalfa suplementado con distintos concentrados energéticos para alimentar cabras lecheras. *Asociación Latinoamericana de Producción Animal* 18: 17-26.
13. **Duncan, A. J. & D. P. Poppi.** 2008. Nutritional ecology of grazing and browsing ruminants. In: *The Ecology of Browsing and Grazing* (Ed. I. J. Gordon and H. H. T. Prins). *Ecological Studies.* pp. 89-116.
14. **Dung, N.T. & I. Mui.** 2005. Effect of replacing a commercial concentrate with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) on the performance of growing goats. *Animal Feed Science and Technology* 21: 197-204.

15. **Fimbres, H., J. R. Kawas, G. Hernandez-Vidal, J. F. Picon-Rubio & C. D. Lu.** 2002. Nutrient intake, digestibility, mastication and ruminal fermentation of lambs fed finishing ration with various forage levels. *Small Rumin. Res.* 43: 275–281.
16. **Garces-Yepez, P., W. E. Kunkle, D. B. Bates, J. E. Moore, W. W. Thatcher & L. E. Sollenberger.** 1997. Effects of supplemental energy source and amount on forage intake and performance by steers and intake and diet digestibility by sheep. *J. Anim. Sci.* 75:1918–1925.
17. **Goetsch A.L., G. Detweiler, T. Sahlu, R. Puchala & L.J. Dawson.** 2001. Dairy goat performance with different dietary concentrate levels late lactation. *Small Rumin. Res.* 41: 117-12.
18. **Grant, R.J. & D.R. Mertens.**1992. Development of buffer of pH effects on fiber systems for pH control and evaluation digestion in vitro. *J. Dairy Sci.* 75:1581–1587.
19. **Hofman, R. R.** 1989. Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: a comparative view of their digestive system. *Oecologia* 78:443-457.
20. **Kellaway, R., & S. Porta.** 1993. Feeding concentrates supplements for dairy cows. Dairy Research and Development Corporation. Australia. 176 pp.
21. **Kovacik, A.M., S.C. Loerch & B.A. Dehority.**1986. Effect of supplemental sodium bicarbonate on nutrient digestibility and ruminal pH measured continuously. *J. Anim. Sci.* 62:226–234.
22. **Lefrileux Y., P. Morand-Fehr & A. Pommare.** 2008. Capacity of high milk yielding goats for utilizing cultivated pasture. *Small Rumin. Res.* 77: 113-126.

23. **Liu X., Z. Wang & F. Lee.** 2005. Influence of concentrate level on dry matter intake, N balance, nutrient digestibility, ruminal outflow rate, and degradability in sheep. *Small Rumin. Res.* 58: 55-62.
24. **Matejovsky, K. M. & D. W. Sanson.** 1995. Intake and digestion of low-, medium-, and high- quality grass hays by lambs receiving increasing levels of corn supplementation. *J. Anim. Sci.* 73:2156–2163.
25. **Molina-Alcaide, E., A. I. Martín-García & J. F. Aguilera.** 2000. A comparative study of nutrient digestibility, kinetics of degradation and passage and rumen fermentation pattern in goats and sheep offered good quality diets. *Livest. Prod. Sci.* 64: 215– 222.
26. **Morand-Fehr, P. & D. Sauvant.** 1980. Composition and yield of goat milk as affected by nutritional manipulation. *J. Dairy Sci.* 63:1671-1980.
27. **Mould, F. L. & E. R. Orskov.** 1984. Manipulation of rumen fenid pH and influence on cellulose in sacco, dry matter degradation and the run microflora of sheep offered either hay or concentrate. *Animal Feed Science and Technology.*10:1-14.
28. **Moore, J.A., M.H. Poore, J.M. Luginbuhl.** 2002. By-product feeds for meat goats: Effects on digestibility, ruminal environment, and carcass characteristics. *J. Anim. Science.*80:1752-1758.
29. **Provenza, F.D., J.J. Villalba, L. E. Dziba, S.B. Atwood & R.E. Banner.** 2003. Linking herbivore experience, varied diets, and plant biochemical diversity. *Small Ruminant Research.* 49:257-274.
30. **Rapetti, L. & L. Bava.** 2004. Effect of grinding of maize and level of starch on digestibility and lactation performance of Saanen goats. *South African Journal of Animal Science.* 34:85-88.

31. **Rapetti, L & L. Bava.** 2008. In: Antonello Cannas and Giuseppe Pulina Editores. Feeding Management of Dairy Goats in Intensive Systems. Italy, Milan. pp. 221-337.
32. **Rapetti, L., L. Bava, A. Tamburini & G.M. Crovetto.** 2005. Feeding behaviour, digestibility, energy balance and productive performance of lactating goats fed forage-based and forage-free diets. Italian. Journal of Animal Science. 4:71-83.
33. **Russell, J. B. & J. L. Rychlik.** 2001. Factors that alter rumen microbial ecology. Science 292:1119-1122.
34. **SAS Institute Inc.** 2004. SAS On line Doc* 9.1.3. Cary, NC: SAS Institute. Inc.
35. **Stockdale, C. R.** 2000. Differences in body condition and body size affect the responses of grazing dairy cows to highenergy supplements in early lactation. Aust. J. Exp. Agric. 40:903-911.
36. **Stritzler, N.P., C.M. Ferri, J.H. Pagella, H.J. Petruzzi & C.M. Rabotnikof.** 2004. Tasa de consumo de corto plazo, digestibilidad y consumo voluntario en mijo perenne diferido. Efecto de la suplementación con maíz. Divulgación Técnica N° 88. EEA Anguil. pp.68-71.
37. **Tsiplakou, E., I. Hadjigeorgiou, K. Sotirakoglou & G. Zervas.** 2011. Differences in mean retention time of sheep and goats under controlled feeding practices. Small Rumin. Res. 95:48-53.
38. **Van Soest, P.J, J.B. Robertson & B.A. Lewis.** 1991. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber and non-starch polysaccharids in relation to animal nutrition. J. Dairy Sc.74:3583-3597.
39. **Zinn, R.A. & F.N. Owens.** 1983. Influence of feed intake level on site of digestion in steers fen a high concentrate diet. J. Anim. Sci. 56 (2):471-475.

TABLAS, FOTOS Y FIGURAS

Tabla II.1. Composición química de los alimentos.

Ítem	Alfalfa	Maíz
MS (%)	87,0	89,0
MO (%)	91,9	98,7
PB (%)	13,7	7,3
FC (%)	24,9	2,1
EE (%)	2,4	3,9
ELN (%)	37,3	72,8
Cenizas (%)	8,1	1,3
FDN (%)	58,87	14,55
FDA (%)	44,03	3,68
TND (%)	50,0	83,0

* Lab. de Bioquímica y Fitoquímica. Fac. Cs Agrarias y Ftiles. UNLP. Lab. de Nutrición animal. Fac. Cs Veterinarias. UNLP.

MS: Materia Seca.

MO: Materia Orgánica.

PB: Proteína Bruta.

FC: Fibra Cruda.

EE: Extracto Etéreo.

ELN: Extractivo Libre de Nitrógeno.

FDN: Fibra Detergente Neutro.

FDA: Fibra Detergente Ácido.

TND: Total de Nutrientes Digestibles.

Tabla II.2. Composición química de la dieta según tratamiento.

Ítem	Dietas		
	C0	C1	C2
MS (%)	87	87,40	87,8
MO (%)	91,9	93,24	94,58
PB (%)	13,7	12,42	11,14
FDN (%)	58,87	49,92	41,12
FDA (%)	44,03	35,95	27,91

MS: Materia Seca.

MO: Materia Orgánica.

PB: Proteína Bruta.

FDN: Fibra Detergente Neutro.

FDA: Fibra Detergente Ácido.

C0: 100% heno de alfalfa.

C1: 0,5% del PV de maíz entero y heno de alfalfa en la dieta.

C2: 1% del PV de maíz entero y heno de alfalfa en la dieta.

Tabla II.3. Composición química de los alimentos del experimento II.II (efecto del grano entero de maíz sobre la digestibilidad de la fibra en dietas a base de heno de alfalfa ad libitum) y del experimento II.III (efecto del grano molido de maíz sobre la digestibilidad de la fibra en dietas a base de heno de alfalfa ad libitum).

Ítem	Alfalfa	Maíz
MS (%)	87,0	89,0
MO (%)	91,9	98,7
PB (%)	13,9	8,1
FC (%)	24,9	2,1
EE (%)	2,4	3,9
ELN (%)	37,3	72,8
Cenizas (%)	8,1	1,3
FDN (%)	55,33	14,55
FDA (%)	42,53	3,68
TND (%)	50,0	83,0

*Lab. de Bioquímica y Fitoquímica. Fac. Cs Agrarias y Ftiles. UNLP. Lab. de Nutrición animal. Fac. Cs Veterinarias. UNLP.

MS: Materia Seca.

MO: Materia Orgánica

PB: Proteína Bruta.

FC: Fibra Cruda

EE: Extracto Etéreo

ELN: Extractivo Libre de Nitrógeno

FDN: Fibra Detergente Neutro.

FDA: Fibra Detergente Ácido.

TND: Total de Nutrientes Digestibles.

Tabla II.4. Contrastes ortogonales polinomiales para determinar efectos lineales, cuadráticos, y análisis de comparación de medias para evaluar la incidencia de la suplementación con grano entero de maíz y heno base alfalfa, dieta ajustada a un % del PV, sobre el CMST, CMSTD, CTFDN, CTFDA, CTPB, DTAIV de la MS, FDA, FDN y PB.

Ítem	Dietas			Contrastes			
	C ₀	C ₁	C ₂	EE	L	Q	P-valor
CMST (Kg/día)	1,097 ^a	1,038 ^a	1,057 ^a	0,260	0,308	0,262	0,319
CMSTD (Kg/día)	0,694 ^a	0,685 ^a	0,754 ^a	0,387	0,378	0,349	0,434
CTFDN (kg/día)	0,603 ^a	0,483 ^b	0,408 ^c	0,199	0,001	0,354	0,001
CTFDA (kg/día)	0,483 ^a	0,370 ^b	0,296 ^c	0,160	0,001	0,339	0,001
CTPB (Kg/día)	0,153 ^a	0,130 ^b	0,117 ^b	0,051	0,003	0,380	0,001
DTAIVMS (%)	63,25 ^a	66,03 ^a	71,33 ^b	1,235	0,003	0,418	0,007
DTAIVFDA (%)	59,73 ^a	56,99 ^a	57,39 ^a	1,599	0,306	0,476	0,452
DTAIVFDN (%)	54,88 ^a	52,79 ^a	55,50 ^a	1,423	0,728	0,242	0,456
DTAIVPB (%)	75,13 ^a	75,99 ^a	72,76 ^a	4,221	0,702	0,703	0,853

C₀: 100% heno de alfalfa.

C₁: 0,5% del PV de maíz entero y heno de alfalfa en la dieta.

C₂: 1% del PV de maíz entero y heno de alfalfa en la dieta.

CMST Kg/día: Consumo de materia seca total expresado en kg por día.

CMSTD Kg/día: Consumo de materia seca total digestible expresado en kg por día.

CTFDN Kg/día: Consumo total de FDN expresado en kg por día.

CTFDA Kg/día: Consumo total de FDA expresado en kg por día.

CTPB Kg/día: Consumo total de Proteína Bruta expresado en kg por día.

DTAIVMS: digestibilidad total aparente *in vivo* de la materia seca, expresado en porcentaje.

DTAIVFDA: digestibilidad total aparente *in vivo* de la fibra detergente ácida expresado en porcentaje.

DTAIVFDN: digestibilidad total aparente *in vivo* de la fibra detergente neutro expresado en porcentaje.

DTAIVPB: digestibilidad total aparente *in vivo* de la proteína bruta expresado en porcentaje.

EE: Error estándar.

L: Valor de probabilidad asociado a un efecto lineal de nivel de suplementación con maíz en un contraste polinomial ortogonal.

Q: Valor de probabilidad asociado a un efecto cuadrático de nivel de suplementación con maíz en un contraste polinomial ortogonal.

P valor: Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla II.5. Contrastes ortogonales polinomiales para determinar efectos lineales, cuadráticos, cúbicos y análisis de comparación de medias en la suplementación con grano entero de maíz y heno base alfalfa *ad libitum* sobre CMST/PV, CMSTD, CMSF, CTFDN, CTFDA, CTPB y F/C.

Ítem	Dietas				EE	Contrastes			P-valor
	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃		L	Q	C	
CMST/ PV (%)	3,97 ^a	4,04 ^a	3,67 ^a	3,48 ^a	0,254	0,121	0,611	0,592	0,387
CMSTD (Kg/día)	1,02 ^a	1,15 ^a	1,04 ^a	1,01 ^a	0,114	0,791	0,472	0,501	0,002
CMSF (Kg/día)	1,56 ^a	1,43 ^a	1,03 ^b	0,76 ^b	0,131	0,001	0,613	0,512	0,001
CTFDN (Kg/día)	0,863 ^a	0,820 ^{ab}	0,627 ^{bc}	0,502 ^c	0,728	0,000	0,565	0,488	0,004
CTFDA (Kg/día)	0,660 ^a	0,612 ^b	0,451 ^c	0,343 ^c	0,559	0,000	0,585	0,499	0,001
CTPB (Kg/día)	0,218	0,217	0,176	0,152	0,184	0,006	0,532	0,488	0,036
F/C	-----	86/14 ^a	70/30 ^b	53/47 ^c	2,241	0,001	0,398	0,931	0,003

D₀: 100% heno de alfalfa *ad libitum*.

D₁: 0,5% del PV de maíz entero y alfalfa *ad libitum* en la dieta.

D₂: 1% del PV de maíz entero y alfalfa *ad libitum* en la dieta.

D₃: 1,5% del PV de maíz entero y alfalfa *ad libitum* en la dieta.

CMST/PV (%): Consumo de materia seca total por día expresado en porcentaje del PV.

CMSTD: Consumo de materia seca total digestible expresado en Kg por día.

CMSF: Consumo de materia seca de forraje expresado en Kg por día.

CTFDN: Consumo total de FDN expresado en Kg por día.

CTFDA: Consumo total de FDA expresado en Kg por día.

CTPB: Consumo total de Proteína Bruta expresado en Kg por día.

F/C: Relación forraje concentrado de la dieta consumida, según tratamiento.

EE: Error estándar.

L: Valor de probabilidad asociado a un efecto lineal de nivel de suplementación con maíz en un contraste polinomial ortogonal.

Q: Valor de probabilidad asociado a un efecto cuadrático de nivel de suplementación con maíz en un contraste polinomial ortogonal.

C: Valor de probabilidad asociado a un efecto cúbico de nivel de suplementación con maíz en un contraste polinomial ortogonal.

P valor: Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla II.6. Composición química de la dieta según tratamiento del experimento II.II (efecto del grano entero de maíz sobre la digestibilidad de la fibra en dietas a base de heno de alfalfa *ad libitum*).

Ítem	Dietas			
	D0	D1	D2	D3
MS (%)	87	87,33	87,66	88,0
MO (%)	91,9	92,28	94,15	95,26
PB (%)	13,9	12,91	11,93	10,95
FDN (%)	55,33	48,51	41,73	34,96
FDA (%)	42,53	36,08	29,66	20,75

MS: Materia Seca.

MO: Materia Orgánica.

PB: Proteína Bruta.

FDN: Fibra Detergente Neutro.

FDA: Fibra Detergente Ácido.

D₀: 100% heno de alfalfa *ad libitum*.

D₁: 0,5% del PV de maíz entero y alfalfa *ad libitum* en la dieta.

D₂: 1% del PV de maíz entero y alfalfa *ad libitum* en la dieta.

D₃: 1,5% del PV de maíz entero y alfalfa *ad libitum* en la dieta.

Tabla II.7. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos lineales, cuadráticos, cúbicos y análisis de comparación de medias en la suplementación con grano entero de maíz y heno base alfalfa *ad libitum*, sobre la DTAIV de la MS, MO, FDA, FDN y PB (*).

Ítem	Dietas				EE	Contrastes			P-valor
	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃		L	Q	C	
DTAIVMS (%)	67,85 ^a	69,81 ^a	72,53 ^{ab}	75,83 ^b	1,834	0,005	0,728	0,994	0,039
DTAIVMO (%)	76,72 ^a	81,79 ^{ab}	82,64 ^{ab}	87,25 ^b	2,452	0,030	0,898	0,769	0,042
DTAIVFDA (%)	72,59 ^a	68,61 ^a	65,82 ^a	63,24 ^a	1,139	0,040	0,825	0,947	0,251
DTAIVFDN (%)	72,38 ^a	67,49 ^a	65,59 ^a	63,26 ^a	2,864	0,035	0,823	0,944	0,218
DTAIVPB (%)	71,04 ^a	67,88 ^a	65,71 ^a	65,70 ^a	2,911	0,173	0,606	0,934	0,528

* Lab. de Bioquímica y Fitoquímica. Fac. Cs Agrarias y Ftiles. UNLP. Lab. de Nutrición animal. Fac. Cs Veterinarias. UNLP.

D₀: 100% heno de alfalfa *ad libitum*.

D₁: 0,5% del PV por día de maíz entero y alfalfa *ad libitum* en la dieta.

D₂: 1% del PV por día de maíz entero y alfalfa *ad libitum* en la dieta.

D₃: 1,5% del PV por día de maíz entero y alfalfa *ad libitum* en la dieta.

DTAIVMS: digestibilidad total aparente *in vivo* de la materia seca, expresado en porcentaje.

DTAIVMO: digestibilidad total aparente *in vivo* de materia orgánica, expresada en porcentaje.

DTAIVFDA: digestibilidad total aparente *in vivo* de la fibra detergente ácida, expresada en porcentaje.

DTAIVFDN: digestibilidad total aparente *in vivo* de la fibra detergente neutro, expresada en porcentaje.

DTAIVPB: digestibilidad total aparente *in vivo* de la proteína bruta, expresado en porcentaje.

EE: Error estándar.

L: Valor de probabilidad asociado a un efecto lineal de nivel de suplementación con maíz en un contraste polinomial ortogonal.

Q: Valor de probabilidad asociado a un efecto cuadrático de nivel de suplementación con maíz en un contraste polinomial ortogonal.

C: Valor de probabilidad asociado a un efecto cúbico de nivel de suplementación con maíz en un contraste polinomial ortogonal.

P valor: Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla II.8. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos lineales, cuadráticos y cúbicos y análisis de comparación de medias en la suplementación con grano molido de maíz y heno base alfalfa *ad libitum*, en el CMST/PV, CMSTD, CMSF, CTFDN, CTFDA, CTPB y F/C.

Ítem	Dietas				EE	Contrastes			P-valor
	M ₀	M ₁	M ₂	M ₃		L	Q	C	
CMST/PV (%)	2,81 ^a	3,03 ^a	3,14 ^a	3,00 ^a	0,236	0,610	0,466	0,891	0,794
CMSTD (Kg/día)	0,862 ^a	0,950 ^a	0,958 ^a	0,932 ^a	0,835	0,580	0,498	0,906	0,835
CMSF (Kg/día)	1,13 ^a	0,926 ^a	0,774 ^{ab}	0,534 ^b	0,117	0,002	0,877	0,796	0,014
CTFDN (Kg/día)	0,665 ^a	0,604 ^{ab}	0,514 ^b	0,304 ^c	0,052	0,001	0,171	0,697	0,001
CTFDA (Kg/día)	0,548 ^a	0,480 ^{ab}	0,392 ^b	0,274 ^c	0,042	0,001	0,572	0,960	0,002
CTPB (Kg/día)	0,165 ^a	0,158 ^{ab}	0,142 ^b	0,106 ^c	0,014	0,006	0,312	0,862	0,033
F/C	-----	87/13 ^a	71/29 ^b	49/51 ^c	2,074	0,001	0,904	0,875	0,001

M₀: 100% heno de alfalfa *ad libitum*.

M₁: 0,5% del PV por día de maíz molido y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

M₂: 1% del PV por día de maíz molido y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

M₃: 1,5% del PV por día de maíz molido y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

CMST/PV: Consumo de materia seca total por día expresado en porcentaje del PV.

CMSTD: Consumo de materia seca total digestible expresado en Kg por día.

CMSF: Consumo de materia seca de forraje, expresado en Kg por día.

CTFDN: Consumo total de FDN expresado en Kg por día.

CTFDA: Consumo total de FDA expresado en Kg por día.

CTPB: Consumo total de PB expresado en Kg por día..

F/C: Relación forraje concentrado de la dieta consumida, según tratamiento.

EE: Error estándar.

L: Valor de probabilidad asociado a un efecto lineal de nivel de suplementación con maíz en un contraste polinomial ortogonal.

Q: Valor de probabilidad asociado a un efecto cuadrático de nivel de suplementación con maíz en un contraste polinomial ortogonal.

C: Valor de probabilidad asociado a un efecto cúbico de nivel de suplementación con maíz en un contraste polinomial ortogonal.

P valor: Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla II.9. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos lineales, cuadráticos, cúbicos y análisis de comparación de medias en la suplementación con grano molido de maíz y heno base alfalfa *ad libitum*, sobre la DTAIV de la MS, MO, FDA, FDN, y PB (*).

Ítem	Dietas				EE	Contrastes			P-valor
	M ₀	M ₁	M ₂	M ₃		L	Q	C	
DTAIVMS (%)	70,76 ^a	72,60 ^a	78,82 ^{ab}	82,96 ^b	2,253	0,000	0,616	0,523	0,004
DTAIVMO (%)	73,63 ^a	75,66 ^a	80,27 ^{ab}	83,32 ^b	2,386	0,005	0,835	0,703	0,041
DTAIVFDA (%)	64,51 ^a	65,52 ^a	46,01 ^b	53,81 ^{ab}	5,028	0,494	0,367	0,015	0,090
DTAIVFDN (%)	75,23 ^a	77,27 ^a	63,76 ^b	72,79 ^{ab}	2,952	0,156	0,253	0,016	0,048
DTAIVPB (%)	70,46 ^a	69,83 ^a	63,07 ^a	70,83 ^a	4,225	0,767	0,327	0,330	0,566

*Lab. de Bioquímica y Fitoquímica. Fac. Cs Agrarias y Ftiles. UNLP. Lab. de Nutrición animal. Fac. Cs Veterinarias. UNLP.

M₀: 100% heno de alfalfa *ad libitum*.

M₁: 0,5% del PV por día de maíz molido y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

M₂: 1% del PV por día de maíz molido y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

M₃: 1,5% del PV por día de maíz molido y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

DTAIVMS: digestibilidad total aparente *in vivo* de la materia seca, expresado en porcentaje.

DTAIVMO: digestibilidad total aparente *in vivo* de la materia orgánica expresado en porcentaje.

DTAIVFDA: digestibilidad total aparente *in vivo* de la fibra detergente ácida expresado en porcentaje.

DTAIVFDN: digestibilidad total aparente *in vivo* de la fibra detergente neutro expresado en porcentaje.

DTAIVPB: digestibilidad total aparente *in vivo* de la proteína bruta expresado en porcentaje.

EE: Error estándar.

L: Valor de probabilidad asociado a un efecto lineal de nivel de suplementación con maíz en un contraste polinomial ortogonal.

Q: Valor de probabilidad asociado a un efecto cuadrático de nivel de suplementación con maíz en un contraste polinomial ortogonal.

C: Valor de probabilidad asociado a un efecto cúbico de nivel de suplementación con maíz en un contraste polinomial ortogonal.

P valor: Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Foto II.1. Jaulas de digestibilidad.



Foto II.2. Sistema de bolsa recolectora de materia fecal



CAPÍTULO III

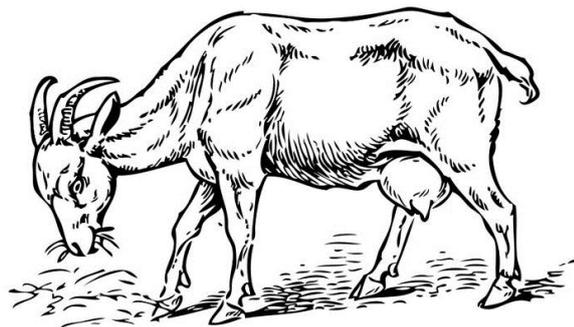
Efecto de la suplementación con grano de maíz sobre el pH ruminal y la degradabilidad *in situ* de fibra.

Experimento III.I: Efecto de la incorporación de grano entero de maíz sobre el pH ruminal, en dietas a base de heno de alfalfa.

Experimento III.II: Efecto de la incorporación de grano molido de maíz sobre el pH ruminal, en dietas a base de heno de alfalfa.

Experimento III.III: Efecto del grano de maíz molido sobre la degradabilidad ruminal *in situ* del heno base alfalfa para distintas relaciones F/C.

Experimento III.IV: Efecto del grano de maíz molido en la degradabilidad ruminal *in situ* del heno base alfalfa suministrado al *ad libitum*.



INTRODUCCIÓN

La digestibilidad hace referencia a la cantidad de alimento que desaparece en el tracto digestivo, mientras que la degradabilidad se refiere a la cantidad de alimento que se descompone en sus elementos integrantes, mediante procesos biológicos o químicos (Giraldo et al., 2006).

La degradabilidad ruminal depende básicamente de dos aspectos: la velocidad de degradación y la velocidad de tránsito ruminal. A su vez la solubilidad y la estructura molecular del alimento, a través de sus efectos sobre la actividad microbiana, condicionan dicha velocidad de degradación junto al pH, al tamaño de las partículas, la relación forraje concentrado, la ingestión de agua y de materia seca (Rosero & Posada, 2007). El ritmo de paso del alimento a través del rumen, se ve influenciado por dos factores: el aumento de la ingesta (Tamminga, 1979) y el tamaño reducido de partícula del alimento, aumentando el ritmo de paso y repercutiendo negativamente sobre la degradabilidad (Eliman & Ørskov, 1984).

La intensificación de los sistemas productivos ha sido responsable del aumento de la incidencia de trastornos nutricionales y metabólicos relacionados a una inadecuada alimentación, como la acidosis ruminal (Afonso, 2005). Prueba de ello son los frecuentes casos de acidosis ruminal subaguda diagnosticados en rebaños lecheros (Noro et al., 2010).

El pH ruminal está influenciado por el tipo de alimento consumido y su estabilización regulada por el alto poder tampón de la saliva (Owens & Goetsch, 1988; Van Soest, 1994). De hecho, la masticación es el paso principal en el proceso de la descomposición del tejido del forraje y la extracción de nutrientes (Hadjigeorgiou et al., 2003). Los procesos de mascar y rumiar aumentan el flujo de saliva y garantiza la capacidad amortiguadora en el rumen. La reducción del tamaño de las partículas del alimento mejora el acceso a los sustratos por parte de los microorganismos ruminales (Kaske et al., 2002). La actividad de masticación se ve afectada por el tamaño de partícula, la cantidad de fibra en el alimento, el consumo de materia seca y la relación forraje/concentrado (Kawas et al., 1991; Mertens, 2000). Cuando en una dieta se incrementa la FDN, se favorece el estímulo físico ejercido por ella sobre las paredes ruminales incrementándose la masticación, la rumia y consecuentemente la secreción de saliva (Harfoot, 1981; Hoover & Stokes, 1991; García & Kalscheur 2006).

A mayor consumo de fibra, aumentan todos los tiempos masticatorios (Santini et al., 1991, 1992). Santini et al. (1992) encontraron que cabras lecheras en lactación dedicaron 183 a 263 min/d al consumo, y 249 a 364 min/d a la rumia, consumiendo dietas de heno de alfalfa suplementado con maíz y harina de soja, y con contenidos de fibra total entre 14 y 26%.

La mayor reducción del pH ruminal se verifica entre las 0,5 y 4 horas posteriores a la ingesta del alimento, según su tasa de degradación (Ørskov, 1986). El procesamiento del grano es la tecnología más utilizada para maximizar la digestión total del almidón (Zinn et al., 2002; Vasconcelos & Galyean, 2007) pero provocan a nivel ruminal, una secreción de saliva insuficiente para mantener valores de pH mayores a 6 y una menor motilidad ruminal (Gonçalves, 2001). Por el contrario, los granos enteros promueven una mayor salivación (mayor efecto fibra efectiva) y un menor descenso del pH ruminal, esperándose una reducción en la incidencia de acidosis subclínicas y un mayor consumo total (Britton & Stock, 1986; Stock et al., 1995).

No obstante, las cabras parecen mostrar cierta capacidad de adaptación en función de la velocidad de degradación del concentrado. Para reducir el riesgo de acidosis agudas, en dietas con relación F/C muy bajas (30/70) aumentan el número de comidas secundarias, fraccionando la ingesta del concentrado (Abijaoudé et al., 2000).

Si no se dispone de forrajes, la utilización de subproductos puede aportar la fibra necesaria para lograr relaciones F/C más adecuadas (35/65) (Bava et al., 2001).

El factor de mayor importancia que parece explicar las diferencias de digestión entre los diferentes granos de cereales es la matriz proteica que envuelve los gránulos de almidón. La velocidad de degradación ruminal de la proteína de la matriz determina la velocidad de hidrólisis del almidón y aumenta a medida que esa matriz es degradada. La menor degradabilidad del maíz y el sorgo, en comparación con otros granos de cereales, se debe a la resistencia del endosperma córneo a la colonización bacteriana y a su posterior digestión (Satter 1986; Mc Allister et al., 1990; Stern et al., 1994).

La energía es limitante en todo sistema de alimentación, de allí la importancia de su valoración en los alimentos (Torres et al., 2009). La suplementación con concentrados energéticos, en animales que consumen forrajes, mejora las condiciones del ambiente ruminal, la degradabilidad ruminal de los alimentos, la eficiencia de la actividad fermentativa y la síntesis de proteína microbiana, aumentando el consumo y la respuesta productiva de los mismos (Vergara et al., 2006; Suárez et al., 2007). Elías

(1983), Ramos (2005) y Milleo et al., (2006) demostraron que al incrementarse el consumo de concentrado energético rico en almidones, el valor de pH ruminal puede ser inferior a 6 y verificarse una disminución en la digestión de la fibra y el desarrollo microbiano.

Li et al., (2011) en un estudio realizado con bovinos, utilizando una dieta a base de silaje de cebada con y sin residuos de destilería del grano de trigo, midieron pH ruminal y degradabilidad *in situ* de la FDN del silaje de cebada a las 24 h y 48 h pos incubación ruminal. Como resultado del mismo, observaron que en la dieta que contenía el residuo de destilería, la degradabilidad a nivel ruminal de la FDN del silo de cebada a las 48 h fue significativamente menor que en la dieta sin dicho residuo. Por otra parte, en cuanto a los valores mínimos de pH ruminal, registrados con el uso del residuo se situaron en torno a 5,10.

En otra experiencia, Nouel et al., (2011) trabajando con corderos alimentados con cama de pollo y crecientes proporciones de harina gruesa de maíz (21 al 48%) midieron pH ruminal y consumo total de materia seca. Dichos autores no observaron diferencias significativas en los valores de pH ruminal con el menor y mayor porcentaje de harina de maíz en la dieta (5,97 y 5,99 respectivamente). Con respecto al consumo total de materia seca, la dieta con menor cantidad de harina gruesa de maíz indujo valores de consumo significativos mayores.

Cuando los rumiantes se alimentan con fuentes proteicas como las leguminosas, algunas de las cuales presentan proteínas solubles altamente degradables en el rumen, es necesario garantizar la energía suficiente para que se produzca la adecuada síntesis de proteína microbiana (Mosimanyana 1992, Ramos et al., 1999; Molina et al., 2003).

Estudios *in vivo* (Herrera-Saldana et al., 1990; Aldrich et al., 1993) e *in vitro* (Russell et al., 1983), indican que el crecimiento bacteriano es máximo cuando las tasas de fermentación del almidón y la proteína están equilibradas, optimizando así la digestión ruminal (De Peters et al., 1992). Como mencionara Aello & Di Marco (2000) surge la importancia de la sincronización entre las cantidades y los momentos de disponibilidad de las fuentes proteicas y energéticas.

En función de los factores mencionados el objetivo del siguiente capítulo fue investigar la incidencia de la forma de presentación del grano de maíz y la relación F/C sobre la degradabilidad *in situ* de la fibra procedente del heno de alfalfa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para los cuatro experimentos se utilizaron cuatro cabras cruzas criollas con Anglo Nubian, no gestantes, secas de 5 años de edad, fistuladas ruminalmente con cánulas permanentes, marca Bar Diamond Inc. de 5 " de diámetro (Figura 1), en un diseño experimental de cuadrado latino de 4x4 replicado, con 7 días de *wash out* entre períodos. Durante el tiempo en que se realizaron las determinaciones, las cabras fueron alojadas en compartimentos individuales (0,80m x 1,50m) con piso rejilla de madera (listones), comederos, pasteras y bebederos automáticos tipo chupete con libre acceso al agua. Se registró el peso de cada animal al comienzo de cada período. La composición de los alimentos utilizados en estas experiencias se registró en la Tabla 1 del capítulo II.

Experimento III.I: Efecto de la incorporación de grano entero de maíz en dietas a base de heno de alfalfa, sobre el pH ruminal.

Tratamientos

Se suministraron 4 dietas: heno a base de alfalfa (D_0), heno a base de alfalfa + grano entero de maíz (0,5% del PV/día) (D_1), heno a base de alfalfa + grano entero de maíz (1% del PV/día) (D_2), heno a base de alfalfa + grano entero de maíz (1,5% del PV/día) (D_3). Se implementó un período de quince días de acostumbramiento a cada dieta, previo a la toma de las muestras. Las cantidades de maíz entero se suministraron en forma creciente, iniciando con 70 g por animal por día, hasta alcanzar las proporciones de cada tratamiento al comienzo de la segunda semana del período de adaptación. Las dietas fueron suministradas en una única entrega a las 9 AM de cada día, y el heno de alfalfa suministrado *ad libitum*.

Experimento III.II: Efecto de la incorporación de grano molido de maíz en dietas a base de heno de alfalfa, sobre el pH ruminal.

Tratamientos

Se suministraron 4 dietas, heno a base de alfalfa (M_0); heno a base de alfalfa + grano molido de maíz (0,5% del PV/día) (M_1); heno a base de alfalfa + grano molido de

maíz (1% del PV/día) (M₂) y heno a base de alfalfa + grano molido de maíz (1,5% del PV/día) (M₃).

Como en el experimento anterior, se implementó un período de quince días de acostumbramiento a cada dieta, previo a la toma de las muestras. Las cantidades de maíz molido se suministraron en forma creciente, iniciando con 70 g por animal por día, hasta alcanzar las proporciones de cada tratamiento al comienzo de la segunda semana del período de adaptación. Las dietas fueron suministradas en una única entrega a las 9 AM de cada día y el heno de alfalfa fue suministrado *ad libitum*.

Determinación de pH ruminal

En ambos experimento (III.I y III.II), luego del periodo de acostumbramiento a la dieta, se extrajo licor ruminal mediante cánula con bomba de vacío a las 0, 2, 4, 6, 8, 12, y 24 horas posteriores al suministro de la ración. Las muestras obtenidas se filtraron a través de cuatro capas de tela de queso. Se determinó el pH utilizando un peachímetro digital (Silver Cap pH 5045-3B) equipado con electrodo de punción y termo sonda calibrado con soluciones buffer a pH 4 y 7. Se calculó el área bajo la curva, como la sumatoria de las áreas parciales definidas por el valor absoluto de la desviación por debajo de pH 6 y el intervalo de tiempo real entre muestreos consecutivos, abarcando un lapso total de 24 horas, reportada como $\text{pH} \times \text{tiempo de muestreo} / \text{día}$ (Pitt y Pell, 1997).

Se calculó el valor promedio de pH ruminal, tiempo en horas con pH por debajo del 6 y mediante un modelo de medidas repetidas (Littell et al., 1998) el efecto del tiempo pos alimentación y la interacción hora/tratamiento.

Experimento III.III: Efecto del grano de maíz molido sobre la degradabilidad ruminal *in situ* del heno a base de alfalfa para distintas relaciones F/C.

Tratamientos

Se suministraron cuatro dietas: heno a base de alfalfa 100% (D₀), heno a base de alfalfa (70%) + grano de maíz molido (30%) (D₁), heno a base de alfalfa (50%) + grano de maíz molido (50%) (D₂), heno a base de alfalfa (40%) + grano molido de maíz (60%) (D₃).

Las cabras fueron pesadas al comienzo de cada período y el peso promedio fue de $41,200 \pm 0,594$ Kg. En todos los tratamientos, el nivel de consumo fue ajustado en MS al 2,5 % del PV. Se implementó un período de quince días de acostumbramiento a cada dieta, previo a la toma de las determinaciones correspondientes. Como en todos los experimentos anteriores, se implementó un período de quince días de acostumbramiento a cada dieta, previo a la toma de las muestras. Las cantidades de maíz molido se suministraron en forma creciente, iniciando con 70 g por animal por día, hasta alcanzar las proporciones de cada tratamiento al comienzo de la segunda semana del período de adaptación. Las dietas fueron suministradas en una única entrega a las 9 AM de cada día. La composición química de los alimentos utilizados se observan en el capítulo anterior.

Se determinó el consumo alimentario individual durante los últimos 5 días del período de acostumbramiento, mediante la diferencia entre la cantidad de alimento entregado y rechazado. La MS ofrecida fue corregida a través de un incremento equivalente al rechazo del día anterior. El consumo fue expresado en Kg de MS/día (CMST).

Experimento III.IV: Efecto del grano de maíz molido sobre la degradabilidad ruminal *in situ* del heno a base de alfalfa suministrado *ad libitum*.

Tratamientos

Se suministraron 4 dietas, heno a base de alfalfa (M_0); heno a base de alfalfa + grano molido de maíz (0,5% del PV/día) (M_1); heno a base de alfalfa + grano molido de maíz (1% del PV/día) (M_2) y heno a base de alfalfa + grano molido de maíz (1,5% del PV/día) (M_3).

Las cabras fueron pesadas al comienzo de cada período y el peso promedio fue de $39,77 \pm 1,07$ Kg. Se implementó un período de quince días de acostumbramiento a cada dieta, previo a la toma de las muestras. Las cantidades de maíz molido se suministraron en forma creciente, iniciando con 70 g por animal por día, hasta alcanzar las proporciones de cada tratamiento al comienzo de la segunda semana del período de adaptación. Las dietas fueron suministradas en una única entrega a las 9 AM de cada día. Se determinó el consumo alimentario individual durante los últimos 5 días del período de acostumbramiento, mediante la diferencia entre la cantidad de alimento

entregado y rechazado. Para asegurar el carácter *ad libitum* del suministro, las pasteras se mantuvieron constantemente provistas registrándose las cantidades de heno agregadas para tal fin, utilizando una balanza electrónica marca Systel modelo Croma (peso mín 0,1 Kg peso máx. 30 kg). El heno fue recolectado y pesado diariamente expresando su valor en kg de MS. Con las cantidades así determinadas de grano y forraje se calculó la relación F/C.

Determinación de la degradabilidad ruminal in situ

Para los experimentos III.III y III.IV la determinación de la degradabilidad ruminal *in situ* se realizó mediante la técnica de Ørskov et al. (1980). Se utilizaron bolsas de poliéster, marca Ankom, de 10 x 10 cm, de 40 a 60 micras de tamaño de poro lo cual impide la salida del alimento sin afectar la libre entrada de los microorganismos (Foto III.2). Dentro de las bolsas, se colocaron de 10 mg/cm² de muestra de heno base alfalfa para asegurar un contacto adecuado de la muestra con el fluido ruminal (Vanzant et al., 1998; Galina et al., 2004; Loveday et al., 2006; Galyean, 2010). El forraje fue incubado por un período de 24 y 48 h (Li et al., 2011), al cabo de las cuales el material fue retirado del rumen para ser lavado durante períodos de 10 minutos, hasta que el fluido fuese transparente y secado en estufa a 90-95°C durante 24 horas (AOAC, 1995). La degradabilidad se determinó a partir de la diferencia de peso de la muestra del heno a base de alfalfa antes y después de la incubación *in situ* en las bolsas de nylon. Post incubación, se determinó FDA, FDN, siguiendo la técnica de Van Soest (1991) modificada por Komarek (1994) utilizando un equipo analizador de fibra marca Ankom 200, se utilizó α -amilasa termoestable (Sigma A3306) y sulfito de sodio para la determinación de FDN. Posteriormente se calcularon los coeficientes de degradabilidad de dichas fracciones.

Análisis estadístico

Para evaluar el efecto de niveles crecientes de maíz en el pH ruminal y la degradabilidad in situ de los diferentes experimentos, se utilizó el siguiente modelo:

$$Y = \mu + T + UE + P + e$$

Y: variable dependiente

μ : media general del ensayo

T: tratamiento

UE: unidad experimental

P: período

e: error

Los datos fueron analizados por el procedimiento MIXED SAS (SAS, 2004) para un cuadrado latino 4×4 replicado, utilizando un modelo mixto que incluyó el efecto fijo del muestreo (tratamiento, periodo) y el efecto aleatorio del animal. Se usaron contrastes ortogonales para determinar efectos lineales (L), cuadráticos (Q) y cúbicos (C) de niveles crecientes de maíz. Se utilizó el test Tuckey para el análisis de comparación de medias. Las diferencias significativas se consideraron con un valor de $p < 0,05$ y las tendencias con un valor de p entre 0,05 y 0,10.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento III.I: se observó una tendencia a aumentar linealmente ($p=0,073$) la superficie del área bajo la curva del pH umbral y el tiempo en horas con valores por debajo de 6 ($p=0,052$) al aumentar el maíz entero de 0 a 1,5% del PV. El promedio del pH ruminal durante 24 h de medición, no registró efectos significativos ($p > 0,05$) con el incremento del concentrado en la dieta. No se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los valores medios de las variables analizadas para los distintos tratamientos, (Tabla III.1). El pH ruminal mínimo se registró entre las 8 y 12 horas pos ingesta de la ración y se observó un efecto significativo ($p > 0,05$) del tiempo en la evolución del pH (Tabla III.2) independientemente del tratamiento, tal como lo evidencia la falta de interacción ($p > 0,05$) entre hora y tratamiento (Figura III.1).

Experimento III.II: se verificó un incremento lineal significativo ($p < 0,05$) de la superficie del área bajo la curva del pH umbral, con el aumento de maíz molido en la dieta. Se observó un aumento lineal significativo ($p < 0,05$) del tiempo en que el pH estuvo por debajo de 6 en función del contenido de maíz molido y las horas de las dietas M_2 y M_3 fueron significativamente mayor ($p < 0,05$) que las de M_0 y M_1 . Sobre el pH ruminal promedio durante 24 h de medición, se verificó una disminución lineal significativa ($p < 0,05$) con el aumento del concentrado en la dieta. El valor medio diario del pH ruminal de M_3 fue significativamente ($p < 0,05$) menor al de M_0 y M_1 (Tabla III.3).

El valor más bajo de pH se verificó entre las 6 y 8 horas pos ingesta de la ración, registrándose un efecto ($p < 0,05$) del tiempo (horas) en la evolución diaria del pH ruminal (Tabla III.4). No se observó interacción significativa ($p < 0,05$) entre hora y tratamiento (Figura III.2).

Experimento III.III: no se observaron efectos significativos ($p > 0,05$) en el CMST entre los tratamientos. Respecto a la degradabilidad *in-situ* de la MS del heno de alfalfa, aumentó linealmente ($p < 0,05$) con el incremento del grano a las 24 h de su incubación ruminal. A las 48 h, no se registraron efectos significativos ($p > 0,05$) entre los tratamientos. Con respecto a la degradabilidad *in-situ* de las fracciones FDN y FDA del heno de alfalfa, para las 24 h de incubación ruminal no se observaron efectos significativos ($p > 0,05$). La degradabilidad *in-situ* de la FDA disminuyó linealmente ($p < 0,05$) para las 48 h pos incubación ruminal. En relación a la degradabilidad *in-situ* de la FDN del heno de alfalfa, se observó un comportamiento cúbico ($p < 0,05$) luego de 48 h post incubación ruminal con el incremento de maíz molido de 0 a 1,5 % del PV. En un análisis de comparación de medias, para la degradabilidad *in-situ* de la MS del heno de alfalfa para las 24 y 48 h pos incubación, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$). Referido a la degradabilidad *in-situ* de la FDN a las 24 h post incubación ruminal, no registró diferencias significativas entre las dietas probadas ($p > 0,05$). La degradabilidad *in-situ* de la FDN para las 48 h pos incubación ruminal de la dieta D₂ fue significativamente ($p < 0,05$) menor que el resto de los tratamientos. Para la degradabilidad *in-situ* de la FDA a las 24 h de incubación ruminal, no se verificaron diferencias significativas ($p > 0,05$). Para las 48 h de incubación ruminal las dietas D₁, D₂ y D₃ fueron significativamente menor ($p < 0,05$) que la dieta D₀, (Tabla III.5).

Experimento III.IV: mediante un análisis de contrastes ortogonales polinomiales, no se observaron efectos significativos ($p > 0,05$) en el CMST. La relación F/C verificó una disminución lineal ($p < 0,05$) al aumentar las cantidades de maíz molido en la dieta. La degradabilidad *in-situ* de la MS del heno de alfalfa para las 24 h de incubación ruminal, aumentó linealmente ($p < 0,05$) con el incremento de la concentración de maíz molido de 0 a 1,5% del PV y para las 48 h no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$), registrándose el mismo efecto que en el experimento III.III.

Respecto a la degradabilidad *in-situ* de las fracciones FDN y FDA del heno de alfalfa, se observó un efecto cuadrático significativo ($p > 0,05$) para las 24 y 48 h post

incubación ruminal, con el aumento de maíz molido en la dieta de 0 a 1,5% del PV. En un análisis de comparación de medias, la degradabilidad *in-situ* de la MS del heno de alfalfa a las 24 h y 48 h de incubación ruminal no registró diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los diferentes tratamientos. La degradabilidad *in-situ* de la FDN para las 24 h de incubación, se observó una tendencia ($p = 0,071$) a diferir entre los tratamientos. Para las 48 h de incubación, M_2 fue significativamente menor ($p < 0,05$) que M_0 y M_1 . La degradabilidad *in-situ* de la FDA del heno de alfalfa a las 24 h post incubación ruminal observó una tendencia ($p = 0,096$) a diferir entre tratamientos y para las 48 h, M_2 y M_3 fueron significativamente ($p < 0,05$) menor que M_0 y M_1 (Tabla III.6).

pH ruminal:

En coincidencia con Elías (1983), Owens & Goetsch (1988); Van Soest (1994), Gonçalves et al. (2001), Ramos (2005) y García & Kalscheur (2006) al incrementarse las proporciones de concentrados energéticos se observó un descenso del pH ruminal por debajo de 6. Así mismo en el experimento III.I que incluyó grano de maíz entero, aunque los pH ruminales promedios fueron superiores en comparación a las dietas con grano de maíz molido. Probablemente como mencionara Harfoot (1981); Britton & Stock (1986); Stock et al., (1995), Kaske et al., (2002) el grano entero promueve una mayor salivación, (mayor efecto fibra efectiva) y un aumento del pH ruminal con lo que se esperaría una reducción de la acidosis subclínicas y los efectos asociativos negativos entre el almidón y la fibra en el rumen podrían ser inferiores con maíz entero que con grano aplastado o molido, consecuencia de una mayor estabilidad ruminal (Zinn & Owens, 1983). Así mismo el uso de grano entero promueve un mayor pasaje de partículas de almidón sin fermentar en el rumen hacia el tracto inferior con una consecuente mejora en la eficiencia de utilización del almidón (Owens et al., 1986). Esto podría atribuirse al endosperma córneo del grano de maíz que provocaría una resistencia a la colonización bacteriana y lenta degradabilidad ruminal (Satter 1986; McAllister et al., 1990; Stern et al., 1994).

En el experimento III.I en disidencia con Ørskov (1986), respecto al horario en que se verificó el valor más bajo de pH ruminal, en este estudio se observaron entre las 8 y las 12 horas posteriores al suministro del alimento, y no a las 0,5 y 5 horas pos alimentación como mencionara dicho autor. Para el experimento III.II los registros fueron entre las 4 y 6 horas, probablemente la molienda del grano permitió una mayor

disponibilidad del almidón para la colonización bacteriana (Zinn et al., 2002; Vasconcelos & Galyean, 2007).

Consumo y degradabilidad ruminal in situ de la MS, FDN y FDA:

Contrariamente a lo experimentado por Hoover et al., (1991), Vergara et al. (2006), Suárez et al., (2007) y Nouel et al., (2011) los tratamientos no generaron diferencias significativas en el CMST en ambos experimentos. Probablemente como mencionara Abijaoudé et al., (2000) y Bava et al., (2001) las cabras parecen mostrar cierta capacidad de adaptación, en función de la velocidad de degradación del concentrado, para reducir el riesgo de acidosis agudas, especialmente en raciones con relaciones F/C muy bajas (30/70) y no afectar el consumo total de la dieta.

La mayor degradabilidad *in-situ* de la MS del heno de alfalfa, a las 24 h de su incubación, en ambos experimentos, podría interpretarse como producto de una actividad microbiana más intensa. La mayor velocidad inicial de degradación podría deberse a una adecuada relación energía y proteína para el desarrollo de la microflora ruminal (Russell et al., 1983; Herrera-Saldana et al., 1990; De Peters et al., 1992; Mosimanyana 1992; Aldrich et al., 1993; Ramos et al., 1999; Molina et al., 2003; Aello & Di Marco, 2000)

En el presente trabajo, en ambas experiencias, no sólo se obtuvieron valores de pH ruminal inferiores a los indicados como optimizadores de la actividad celulolítica (Mileo et al., 2006), sino que coincidentemente con lo probado por Li et al. (2011), la degradabilidad *in-situ* de las fracciones FDN y FDA del heno de alfalfa incubado en el rumen durante 48 h disminuyó con el aumento de maíz molido en la dieta.

El elevado contenido de almidón del grano de maíz y a su vez molido como se suministró en la experiencia III.III y III.IV, redujo el pH ruminal afectando a la degradabilidad de la fibra del forraje consumido (Mould & Orskov, 1984; Kovacik et al., 1986; Grant & Mertens, 1992; Stern, et al, 1994; Garces-Yopez et al., 1997; Gonçalves, 2001) por un posible efecto sobre la rumia y reducción de la cantidad de saliva (Kawas et al., 1991; Mertens, 2000; Hadjigeorgiou et al., 2003) observándose un cuadro de acidosis subaguda correspondientes a lo citado por Afonso (2005), Krause & Oetzel (2006), Noro et al., (2010). En el experimento III.IV el tratamiento con grano de maíz molido al 1% del PV verificó una menor degradabilidad ruminal de la fibra. Probablemente el mayor CMST y de forraje (16,30% y 40% respectivamente) respecto al experimento III.III para el mismo tratamiento, aumentó la tasa de pasaje

disminuyendo así la posibilidad de degradación ruminal (Tamminga, 1979; Eliman & Ørskov, 1984; Aello & Di Marco, 2000; Rosero & Posada 2007). Por lo tanto, como en el capítulo anterior, se observó la combinación de efectos asociativos negativos en el rumen entre el almidón y la fibra, consecuencia de una menor estabilidad ruminal (Chandramoni et al., 2000; Goetsch et al., 2001; Dung et al., 2005; Liu et al., 2005; Lefrileux et al., 2008).

CONCLUSIÓN

Si bien el nivel de suplementación con grano de maíz influyó sobre el pH ruminal, la acción conjunta de la magnitud del descenso y su duración expresada a través del área bajo la curva, no fueron suficientes para manifestar síntomas clínicos, ni afectar el consumo de materia seca total. Sin embargo en los experimentos en que se utilizó grano de maíz molido, se registraron las menores tasas de degradabilidad ruminal de la fibra.

El tratamiento con grano de maíz molido al 1% del PV y heno de alfalfa *ad libitum*, provocó efectos asociativos negativos entre el almidón y la fibra, debido a un descenso de pH ruminal ya por debajo de 6 y a una todavía alta proporción de fibra en la dieta total consumida. No obstante este efecto sobre la degradabilidad ruminal de la fibra, cantidades crecientes de almidón mejoraron la degradabilidad de la materia seca del heno en su conjunto. Esto podría atribuirse a una mayor sincronía entre los aportes energéticos y nitrogenados.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Abijaoudé, J.A., P. Morand-Fehr, J. Tessier, P. Schmidely & D. Sauvant.** 2000. Influence of forage: concentrate ratio and type of starch in the diet on feeding behaviour, dietary preferences, digestion, metabolism and performance of dairy goats in mid lactation. *Animal Science*. 71: 359–368.
2. **Aello M., O. Di Marco.** 2000. Digestión y metabolismo ruminal. In *Nutrición animal*. (ed) Universidad Nacional de Mar del Plata. Facultad de Ciencias Agrarias. Balcarce, Argentina. pp: 65-99.
3. **Afonso, J. A. B.** 2005. Doenças carenciais e metabólicas e sua influência na exploração de caprinos e ovinos. Seminário norte-rio grandense de caprinocultura e ovinocultura. Mossoró. In: Miranda Neto, E; Afonso, J.A.B; Saulo de Tarso Gusmão da Silva, S.T; Lopes de Mendonça,C. 2009. Utilização da Monensina sódica na Prevenção da Acidose Láctica Ruminal induzida em caprinos *Ciencia Animal Basileira*. Disponible <http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/7737/5508>. Acceso mayo 2012.
4. **Aldrich, J.M., L.D. Muller, G.A. Varga & L.C. Griel.** 1993. Nonstructural carbohydrate and protein effects on rumen fermentation, nutrient flow, and performance of dairy cows. *J Dairy Sci*. 76:1091-1205.
5. **AOAC.** 1995. Dry mater in Animal Feed. Method number 934.01. In: *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 16th edn. vol. I. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA, pp, I (Chapter 4).
6. **Bava, L., Rapetti, L. Crovetto, G.M. Tamburini, A. Sandrucci, A. Galassi, & G. Succi.** 2001. Effects of a nonforage diet on milk production, energy, and nitrogen metabolism in dairy goats throughout lactation. *J. Dairy Sci*. 84:2450-2459.

7. **Britton, R.A. & Stock, R.A.** 1986. Acidosis, rate of starch digestion and intake. In: Symposium Proceedings: Feed Intake by Beef Cattle. F. N. Owens, Ed. Okla. Agric. Exp. Stn. MP-121. pp. 25.
8. **Chandromoni, S., B. Jadhao & M.Y. Tiwari.** 2000. Energy metabolism with particular reference to methane production in Muzaffargarh sheep fed rations varying in roughage to concentrate ratio. *Animal Feed Science and Technology*. 83: 287-300.
9. **DePeters, E.J. & J.P. Cant.** 1992. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: A review. *J. Dairy Sci.* 75: 2043-2070.
10. **Dung, N.T. & I. Mui.** 2005. Effect of replacing a commercial concentrate with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) on the performance of growing goats. *Animal Feed Science and Technology* 21: 197-204.
11. **Elías, A.** 1983. Digestión de pastos y forrajes tropicales. En: Los pastos en Cuba: Utilización. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba 187:247.
12. **Eliman, M.E & Ørskov, E.R.** 1984. Factors affecting the outflow of protein supplement from the rumen. *Animal Production*. 38: 45-51.
13. **Galina, M.A., M. Guerrero, D.C. Puga & G.F.W. Haenlein.** 2004. Effect of a slow intake urea supplementation on growing kids fed corn stubble or alfalfa with a balanced concentrate. *Small Rum. Res.* 53 (1-2):29.
14. **Galyean, M. L.** 2010. Laboratory Procedures in Animal Nutrition Research. Texas Tech Univ. http://apps.depts.ttu.edu/afs/home/mgalyean/lab_man.pdf. Último acceso Febrero, 2014.
15. **García, A. & K. Kalscheur.** 2006. Tamaño de partícula y Fibra efectiva en la dieta de las vacas lecheras College of Agriculture and Biological Sciences.

South Dakota State University. USA. p 5. Disponible:
<http://agbiopubs.sdstate.edu/articles/ExEx4033S.pdf>. Último acceso julio 2014.

16. **Giraldo, C., E. Valderrama, L. Montoya & I. Armbrrecht.** 2006 (Asteraceae) sobre herbivoría de *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae). En: Resúmenes IV Congreso Latinoamericano de Agroforestería para la producción animal sostenible y III Simposio sobre sistemas silvopastoriles para la producción ganadera sostenible. EEPF “Indio Hatuey”. Matanzas, Cuba. Enero. pp.113.
17. **Garces-Yepez, P., W. E. Kunkle, D. B. Bates, J. E. Moore, W. W. Thatcher & L. E. Sollenberger.** 1997. Effects of supplemental energy source and amount on forage intake and performance by steers and intake and diet digestibility by sheep. *J. Anim. Sci.* 75:1918–1925.
18. **Goetsch A.L., G. Detweiler, T. Sahlu, R. Puchala & L.J. Dawson.** 2001. Dairy goat performance with different dietary concentrate levels late lactation. *Small Rumin. Res.* 41: 117-12.
19. **Gonçalves, A., R. Paula Lana, M. Teixeira Rodrigues, R. Mendonça Vieira, A. Queiroz & D. Sampaio Henrique.** 2001. Padrão Nictemeral do pH Ruminal e Comportamento Alimentar de Cabras Leiteiras Alimentadas com Dietas Contendo Diferentes Relações Volumoso:Concentrado. *Rev. Bras. Zootec.* 30(6):1886-1892.
20. **Grant, R.J. & D.R. Mertens.**1992. Development of buffer of pH effects on fiber systems for pH control and evaluation digestion in vitro. *J. Dairy Sci.* 75:1581–1587.
21. **Hadjigeorgiou, I.E., I.J. Gordon & J.A. Milne.** 2003. Intake, digestion and selection of roughage with different staple lengths by sheep and goats. *Small Ruminant Research.* 47: 117–132.

22. **Harfoot, C. G.** 1981. Lipid metabolism in the rumen. In: *Lipid Metabolism in Ruminant Animal*. W. W. Christie, Ed. Pergamon Press. Oxford. pp. 21-55.
23. **Herrera-Saldaña, R.E., J.T. Huber & M.H. Poore.** 1990. Dry matter, crude protein, and starch degradability of five cereals. *J Dairy Sci.*, 73:2386-2393.
24. **Hoover, W.H. & S.R. Stokes.** 1991. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *J. Dairy Sci.* 74:3630.
25. **Kawas, J.R., J. Lopez, D.L. Danelon & C.D. Lu.** 1991. Influence of forage-to-concentrate ratios on intake, digestibility, chewing and milk production of dairy goats. *Small Ruminant Res.* 4: 11-18.
26. **Kaske, M., M. Beyerbach, Y. Hailu, W. Gobel, S. Wagner.** 2002. The assessment of the frequency of chews during rumination enables an estimation of rumination activity in hay-fed sheep. *J. Anim. Physiol. An. N.* 86: 83-89.
27. **Komarek, A. R., J. B. Robertson & P. J. Van Soest.** 1994. Comparison of the filter bag technique to conventional filtration in the Van Soest Analysis of 21 feeds. In: *Proc. Natl. Conf. on Forage Quality, Evaluation and Utilization*, Lincoln, NE. pp.78.
28. **Kovacik, A.M., S.C. Loerch & B.A. Dehority.**1986. Effect of supplemental sodium bicarbonate on nutrient digestibility and ruminal pH measured continuously. *J. Anim. Sci.* 62:226–234.
29. **Krause, M. & G. Oetzel.** 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review, *Animal Feed Science and Technology*; 126:215-236.
30. **Lefrileux Y., P. Morand-Fehr & A. Pommare.** 2008. Capacity of high milk yielding goats for utilizing cultivated pasture. *Small Rumin. Res.* 77: 113-126.

31. **Li, Y. L., T. A. McAllister, K. A. Beauchemin, M. L. He, J. J. McKinnon & W. Z. Yang.** 2011. Substitution of wheat dried distillers grains with soluble for barley grain or barley silage in feedlot cattle diets: Intake, digestibility, and ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.* 89:2491-2501.
32. **Littell, R. C., P. R. Henry & C. B. Ammerman.** 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 76:1216-1231.
33. **Liu X., Z. Wang & F. Lee.** 2005. Influence of concentrate level on dry matter intake, N balance, nutrient digestibility, ruminal outflow rate, and degradability in sheep. *Small Rumin. Res.* 58: 55-62.
34. **Loveday, D. M., H. C. Block, P. A. Thacker & J. J. McKinnon.** 2006. Factors affecting the apparent intestinal (small and large) disappearance of dry matter and crude protein from rumen undegradable residues of various feeds determined using the mobile bag technique for cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 86:419-428.
35. **McAllister, T.A., L.M. Rodé, D.J. Major, K.J. Cheng & J.G. Buchanan-Smith.** 1990. Effect of ruminal microbial colonization on cereal grain digestión. *Can. J. Anim. Sci.*, 70:581-589.
36. **Mertens, D.R.** 2000. Physically effective NDF and its use in dairy ration explored. *Feedstuffs.* 4: 11-14.
37. **Milleo, T.C., W. Hartman, J.A.G Hill, U.G. Netto & F.R Maurer Jr.** 2006. Alteracoes clinicas e laboratoriais em bovinos em quadro de acidose latica ruminal. Em: *Anais.Seminario de Iniciacao Cientifica da Universidade Tuiuti do Parana, Curitiba.* pp.5.
38. **Molina, L.R., N.M. Rodríguez & L.C Goncalves.** 2003. Effect of tannin on in situ degradability of the dry matter and crude protein of six sorghum silage

- genotypes (*Sorghumbicolor* (L.) Moench), harvested at dough stage. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 55: 203-208.
- 39. Mosimanyama, B.M.** 1992. Rumen protection of heat-treated soybean proteins. *Canadian Journal of Animal Science.* 72:71.
- 40. Mould, F. L. & E. R. Orskov.** 1984. Manipulation of rumen pH and influence on cellulose in sacco, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate. *Animal Feed Science and Technology.* 10:1-14.
- 41. Noro M., R. Chihuailaf & F. Wittwer.** 2010. Diagnóstico de alteraciones ácido-básicas ruminales en vacas lecheras a pastoreo mediante ruminocentesis dorsal. En: Contreras PA, Noro M (eds). *Rumen: Morfofisiología, trastornos y modulación de la actividad fermentativa.* América, Valdivia, Chile. pp. 111-118.
- 42. Nouel Borges, G., P. Hevia Opazo, M. Velásquez, M. Espejo Días, C.J. Rojas & B.R. Sánchez.** 2011. Efecto de cama de pollos, subproductos de cereales y caña sobre la fisiología ruminal de ovinos. *Archivos de zootecnia.* 60:19-30.
- 43. Ørskov, E.R.** 1986. Starch digestion and utilization in ruminants. *J. Anim. Sci.,* 63:1624-1633.
- 44. Ørskov, E. R., F. D. De b Hovell & F. Mould.** 1980. The use of the nylon bag technique for evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production* 5: 195-213.
- 45. Owens, F.N., Zin, R.A. y Kim, Y.K.** 1986. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *J. Anim. Sci.* 63:1634-1652.
- 46. Owens, F.N. & A.L. Goetsch.** 1988. Ruminal fermentation. In: Church, D.C. *The ruminant animal digestive physiology and nutrition.* Englewood Cliffs: O. & Books Inc. pp.146-171.

- 47. Pitt, R. E. & A. N. Pell.** 1997. Modeling ruminal pH fluctuations: Interactions between meal frequency and digestion rate. *J. Dairy Sci.* 80:2429–2441.
- 48. Ramos, J.** 2005. Obtención de un concentrado energético proteínico por fermentación en estado sólido de la caña de azúcar para bovinos en ceba. Dr. Tesis. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba.
- 49. Ramos, R., A. Molano & J. Carulla.** 1999. Uso de taninos para controlar la degradación de las proteínas en el rumen Efecto de la inclusión de torta de soya tratada con taninos en un suplemento comercial sobre la producción y la calidad de la leche. *Rev. Colombiana Cienc. Pecuarias.* pp. 12:40.
- 50. Rosero, R. & S. Posada.** 2007. Modelación de la cinética de degradación de alimentos para rumiantes. *Rev Colom de Cien Pecu.* 20: 174-182.
- 51. Russell, J.B., C.J. Sniffen & P.J. Van Soest.** 1983. Effect of carbohydrate limitation on degradation and utilization of casein by mixed rumen bacteria. *J. Dairy Sci.* 66:763-775.
- 52. Santini, F.J. & O.N. Di Marco.** 1983. Monensina. Modo de acción y su efecto sobre el comportamiento productivo del animal. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 3:345-364.
- 53. Santini, F. J., C. D. Lu, M. J. Potchoiba & S. W. Coleman.** 1991. Effects of acid detergent fibre intake on early postpartum milk production and chewing activities in dairy goats fed alfalfa hay. *Small Rumin.Res.* 6: 63–71.
- 54. Santini, F. J., C. Lu, M. J. Potchoiba, J. Fernandez, & S. W. Coleman.** 1992. Dietary fibre and milk yield, mastication, digestion and rate of passage in high Alpine goats fed alfalfa hay. *J. Dairy Sci.* 75: 209–219.
- 55. SAS Institute Inc.** 2004. SAS On line Doc* 9.1.3. Cary, NC: SAS Institute. Inc.

- 56. Satter, L. D.** 1986. Protein and fiber digestion, passage and utilization in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 69:27-34.
- 57. Stern, M.D., S. Calsamimiglia y M.I. Endres.** 1994. Dinámica del metabolismo de los hidratos de carbono y del nitrógeno en el rumen. En: Nuevos sistemas de valoración de alimentos y programas alimenticios para especies domésticas. Fundación española para el desarrollo de la nutrición animal, Barcelona.
- 58. Stock, R.A., T. Klopfenstein & D. Shain.** 1995. Feed intake variation. *Okla. Agric. Exp. Sta. Misc. Publ.* 942:56-59.
- 59. Suárez, B. J., C. G. Van Reenen, G. Beldman, J. Van Delen, J. Dijkstra & W. J. J Gerrits.** 2007. Effects of Supplementing Concentrates Differing in Carbohydrate Composition in Veal Calf Diets: I. Animal Performance and Rumen Fermentation Characteristics. *J. Dairy Sci.* 89:4365.
- 60. Tamminga, S.** 1979. Protein degradation in the forestomachs of ruminants. *Journal of Animal Science.* 49: 1615-1630.
- 61. Torres, G., T. Arbaiza, F. Carcelen & F. Lucas.** 2009. Comparación de las técnicas in situ, in vitro y enzimática (Celulasa) para estimar la digestibilidad de forrajes en ovinos. *Rev Inv Vet Perú.* 20:5-9.
- 62. Van Soest, P.J, J.B. Robertson & B.A. Lewis.** 1991. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber and non-starch polysaccharids in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sc.*74:3583-3597.
- 63. Van Soest, P.J.** 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press. 476 pp.

- 64. Vasconcelos, J.T. & M.L., Galyean.** 2007. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: the 2007 Texas Tech University survey. *J. Anim. Sci.* 85, 2772–2781.
- 65. Vanzant, E. S., R. C. Cochran & E. C. Titgemeyer.** 1998. Standardization of in situ techniques for ruminal feedstuff evaluation. *J. Anim. Sci.* 76:2717-2729.
- 66. Vergara López, J., A. Rodríguez Petit, C. Navarro & A. Atencio.** 2006. Efecto de la suplementación con leucaena (*Leucaena leucocephala* Lam. de Wit) sobre la degradabilidad ruminal del pasto alemán (*Echinochloa polystachya* H.B.K. Hitch). *Revista Científica, FCV-LUZ* 16: 642.
- 67. Zinn, R.A. & F.N. Owens.** 1983. Influence of feed intake level on site of digestion in steers fed a high concentrate diet. *J. Anim. Sci.* 56 (2):471-475.
- 68. Zinn, R.A., F.N. Owens & R.A. Ware.** 2002. Flaking corn: processing mechanics, quality standards, and impacts on energy availability and performance of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 80, 1145–1156.

TABLAS

Tabla III.1. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos lineales, cuadráticos y cúbicos en el pH ruminal, utilizando maíz entero y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

Ítem	Dietas				EE	Contrastes			P-valor
	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃		L	Q	C	
pH h/d	0,00 ^a	0,91 ^a	0,95 ^a	1,77 ^a	0,618	0,073	0,824	0,508	0,283
pH promedio	6,49 ^a	6,43 ^a	6,37 ^a	6,11 ^a	0,161	0,139	0,551	0,788	0,408
Hr pH< 6	0,56 ^a	2,25 ^a	3,25 ^a	6,25 ^a	1,975	0,052	0,732	0,137	0,133

D₀: 100% heno de alfalfa *ad libitum*.

D₁: 0,5% del PV por día de maíz entero y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

D₂: 1% del PV por día de maíz entero y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

D₃: 1,5% del PV por día de maíz entero y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

pH (h/d): pH expresado como superficie bajo la curva de un pH umbral de 6.

pH Prom: pH promedio durante las 24 h de medición, según tratamiento.

Hr pH< 6: Tiempo en horas con pH por debajo del valor 6.

EE: Error estándar.

L: Valor de probabilidad asociado a un efecto lineal de nivel de suplementación con maíz entero en un contraste polinomial ortogonal.

Q: Valor de probabilidad asociado a un efecto cuadrático de nivel de suplementación con maíz entero en un contraste polinomial ortogonal.

C: Valor de probabilidad asociado a un efecto cúbico de nivel de suplementación con maíz entero en un contraste polinomial ortogonal.

P valor: Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla III.2. Efecto del tiempo (h) sobre el pH ruminal durante 12 h post alimentación utilizando maíz entero como concentrado energético.

Ítem							EE
Horas	0	2	4	6	8	12	
Nº de cabras	4	4	4	4	4	4	
pH¹	6,92 ^a	6,48 ^b	6,26 ^{bc}	6,19 ^c	5,93 ^d	5,94 ^d	0,096

pH: pH ruminal.

1: Efecto del tiempo (h) sobre el pH ruminal ($p < 0,0001$).

EE: Error estándar.

Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla III.3. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos lineales, cuadráticos, cúbicos y análisis de comparación de medias del pH ruminal utilizando maíz molido en la dieta y heno de alfalfa *ad libitum*.

Ítem	Dietas				EE	Contrastes			P-valor
	M ₀	M ₁	M ₂	M ₃		L	Q	C	
pH h/d	0,00 ^a	0,79 ^{ab}	3,07 ^{bc}	4,09 ^c	1,047	0,036	0,700	0,478	0,068
pH promedio	6,51 ^a	6,40 ^a	6,07 ^b	5,90 ^b	0,112	0,003	0,808	0,540	0,007
Hr pH < 6	0,35 ^a	3,85 ^b	6,60 ^{bc}	8,08 ^c	1,108	0,006	0,775	0,513	0,016

M₀: 100% heno de alfalfa *ad libitum*.

M₁: 0,5% del PV de maíz molido y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

M₂: 1% del PV de maíz molido y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

M₃: 1,5% del PV de maíz molido y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

pH (h/d): pH expresado como superficie bajo la curva de un pH umbral de 6.

pH Prom: pH promedio durante las 24 h de medición, según tratamiento.

Hr pH < 6: Tiempo en horas con pH por debajo del valor 6.

EE: Error estándar.

L: Valor de probabilidad asociado a un efecto lineal de nivel de suplementación con maíz entero en un contraste polinomial ortogonal.

Q: Valor de probabilidad asociado a un efecto cuadrático de nivel de suplementación con maíz entero en un contraste polinomial ortogonal.

C: Valor de probabilidad asociado a un efecto cúbico de nivel de suplementación con maíz entero en un contraste polinomial ortogonal.

P valor: Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla III.4. Efecto del tiempo (h) sobre el pH ruminal durante 12 h post alimentación utilizando maíz molido como concentrado energético.

Ítem							EE
Hora	0	2	4	6	8	12	
Nº de cabras	4	4	4	4	4	4	
pH¹	7,04 ^a	6,27 ^b	5,92 ^{bc}	5,75 ^c	5,88 ^d	5,91 ^d	0,079

pH: pH ruminal.

1: Efecto del tiempo (h) sobre el pH ruminal ($p < 0,0001$).

Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla III.5. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos lineales, cuadráticos, cúbicos y análisis de comparación de medias en la degradabilidad *in-situ* de la materia seca y de las fracciones FDN y FDA del heno de alfalfa, utilizando maíz molido como suplemento energético, en una dieta ajustada a un % del PV (*).

Ítem	Dietas				EE	Contrastes			P-valor
	M ₀	M ₁	M ₂	M ₃		L	Q	C	
DMSF24	52,50 ^a	54,94 ^a	55,13 ^a	58,75 ^a	1,502	0,030	0,706	0,429	0,121
DMSF48	69,70 ^a	67,40 ^a	62,30 ^a	64,00 ^a	2,785	0,122	0,499	0,469	0,319
DFDN24	39,01 ^a	44,33 ^a	42,74 ^a	45,93 ^a	2,284	0,233	0,621	0,287	0,245
DFDN48	56,06 ^a	57,51 ^a	49,00 ^b	51,51 ^c	0,645	0,001	0,277	0,001	0,001
DFDA24	41,46 ^a	41,18 ^a	40,72 ^a	39,70 ^a	2,265	0,724	0,868	0,967	0,943
DFDA48	62,32 ^a	54,54 ^b	55,27 ^b	52,87 ^b	1,497	0,014	0,122	0,133	0,017
CMST (Kg/día)	1,180 ^a	1,150 ^a	1,100 ^a	1,170 ^a	0,042	0,643	0,329	0,452	0,774

* Lab. de Bioquímica y Fitoquímica. Fac. Cs Agrarias y Ftale. UNLP. Lab. de Nutrición animal. Fac. Cs Veterinarias. UNLP.

M₀: 100% heno de alfalfa.

M₁: 70/30: relación heno de alfalfa/maíz molido.

M₂: 50/50 relación heno de alfalfa/maíz molido.

M₃: 40/60 relación heno de alfalfa/maíz molido.

DMSF24: degradabilidad *in-situ* de la materia seca del heno de alfalfa a las 24 h de incubación.

DMSF48: degradabilidad *in-situ* de la materia seca del heno de alfalfa a las 48 h de incubación.

DFDN24: degradabilidad *in-situ* del FDN del heno de alfalfa a las 24 h de incubación.

DFDN48: degradabilidad *in-situ* del FDN del heno de alfalfa a las 48 h de incubación.

DFDA24: degradabilidad *in-situ* del FDA del heno de alfalfa a las 24 h de incubación.

DFDA48: degradabilidad *in-situ* del FDA del heno de alfalfa a las 48 h de incubación.

CMST: consumo total de materia seca expresada en Kg/día.

EE: Error estándar.

L: Valor de probabilidad asociado a un efecto lineal de nivel de suplementación con maíz molido en un contraste polinomial ortogonal.

Q: Valor de probabilidad asociado a un efecto cuadrático de nivel de suplementación con maíz molido en un contraste polinomial ortogonal.

C: Valor de probabilidad asociado a un efecto cúbico de nivel de suplementación con maíz molido en un contraste polinomial ortogonal.

P valor: Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla III.6. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos lineales, cuadráticos, cúbicos y análisis de comparación de medias en la degradabilidad *in-situ* de la MS y de las fracciones FDN y FDA del heno de alfalfa, utilizando maíz molido como suplemento energético y heno de alfalfa *ad libitum* (*).

Ítem	Dietas				EE	Contrastes			P-valor
	M ₀	M ₁	M ₂	M ₃		L	Q	C	
DMSF24	53,10 ^a	55,00 ^a	56,13 ^a	59,15 ^a	1,502	0,030	0,706	0,429	0,121
DMSF48	70,00 ^a	67,10 ^a	63,30 ^a	64,00 ^a	2,785	0,122	0,499	0,469	0,319
DFDN24	45,59 ^a	40,20 ^{bc}	39,14 ^b	46,90 ^{ac}	2,456	0,422	0,016	0,589	0,071
DFDN48	67,36 ^a	56,45 ^b	49,42 ^c	52,13 ^{bc}	1,914	0,002	0,019	0,475	0,009
DFDA24	48,32 ^a	39,42 ^{bc}	36,59 ^b	46,89 ^{ac}	2,878	0,271	0,030	0,488	0,096
DFDA48	68,44 ^a	56,94 ^b	48,42 ^c	49,92 ^c	2,361	0,003	0,047	0,919	0,009
CMST (Kg/día)	1,129 ^a	1,135 ^a	1,165 ^a	1,008 ^a	0,139	0,976	0,567	0,741	0,864
CMST/PV (%)	2,81 ^a	3,03 ^a	3,14 ^a	3,00 ^a	0,236	0,610	0,466	0,891	0,794
F/C	-----	87/13 ^a	71/29 ^b	49/51 ^c	2,074	0,001	0,904	0,875	0,001

* Lab. de Bioquímica y Fitoquímica. Fac. Cs Agrarias y Ftale. UNLP. Lab. de Nutrición animal. Fac. Cs Veterinarias. UNLP.

M₀: 100% heno de alfalfa.

M₁: 0,5% del PV de maíz molido y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

M₂: 1% del PV de maíz molido y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

M₃: 1,5% del PV de maíz molido y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

DMSF24: degradabilidad *in-situ* de la materia seca del heno de alfalfa a las 24 h de incubación.

DMSF48: degradabilidad *in-situ* de la materia seca del heno de alfalfa a las 48 h de incubación.

DFDN24: degradabilidad *in-situ* del FDN del heno de alfalfa a las 24 h de incubación.

DFDN48: degradabilidad *in-situ* del FDN del heno de alfalfa a las 48 h de incubación.

DFDA24: degradabilidad *in-situ* del FDA del heno de alfalfa a las 24 h de incubación.

DFDA48: degradabilidad *in-situ* del FDA del heno de alfalfa a las 48 h de incubación.

CMST: consumo total de materia seca expresada en Kg/día.

CMST/PV: Consumo de materia seca total por día expresado en porcentaje del PV.

F/C: Relación forraje concentrado.

EE: Error estándar.

L: Valor de probabilidad asociado a un efecto lineal de nivel de suplementación con maíz molido en un contraste polinomial ortogonal.

Q: Valor de probabilidad asociado a un efecto cuadrático de nivel de suplementación con maíz molido en un contraste polinomial ortogonal.

C: Valor de probabilidad asociado a un efecto cúbico de nivel de suplementación con maíz molido en un contraste polinomial ortogonal.

P valor: Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

FOTOS Y FIGURAS

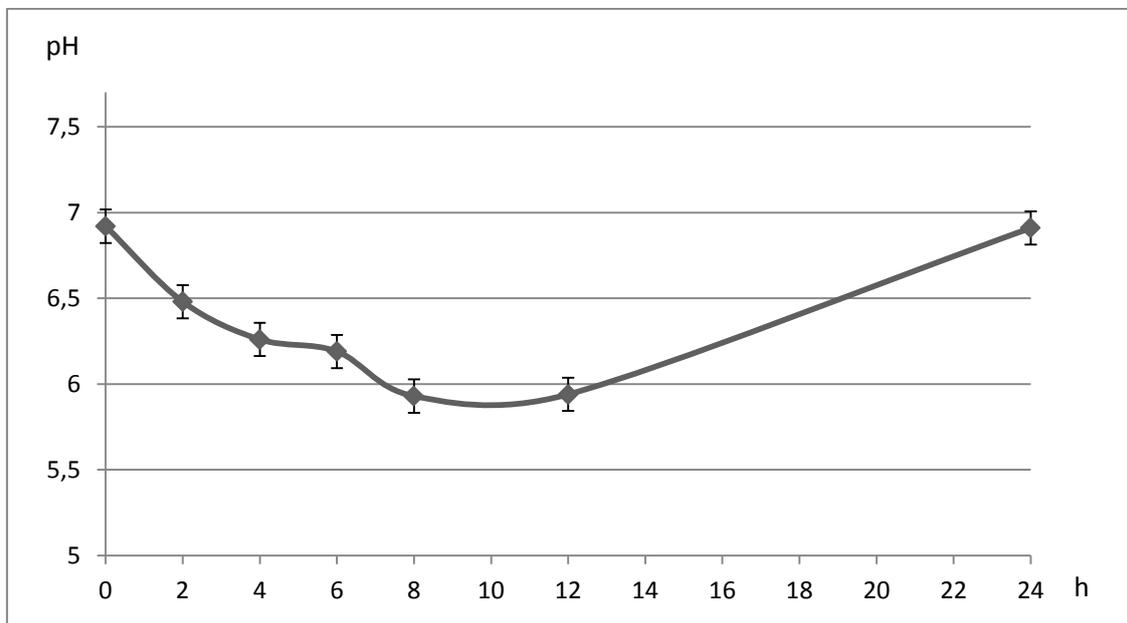
Foto III.1. Cabras fistuladas ruminalmente con cánulas permanentes.



Foto III.2. Bolsas de degradabilidad ruminal.

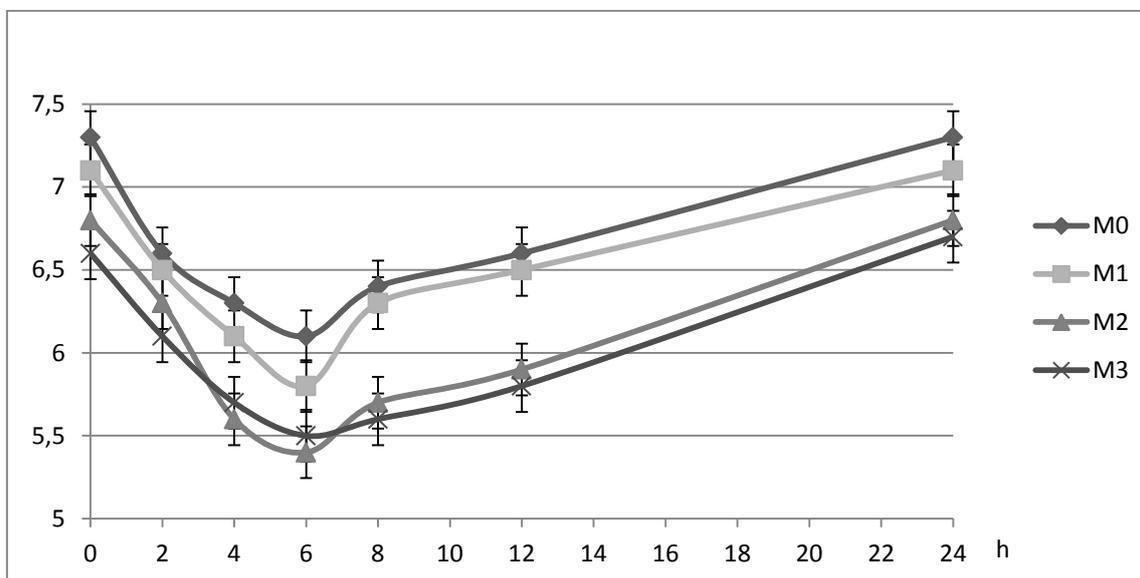


Figura III.1. Valores de pH ruminal durante las 24 h de medición utilizando maíz entero como suplemento energético. Efecto del tratamiento ($p=0,408$). Interacción hora*tratamiento ($p=0,401$).



EE: error estándar (0,097)

Figura III.2. Valores de pH ruminal durante las 24 h de medición utilizando maíz molido como suplemento energético. Efecto del tratamiento ($p=0,005$). Interacción hora*tratamiento ($p=0,862$).



M₀: 100% heno de alfalfa ad libitum.

M₁: 0,5% del PV de maíz molido y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

M₂: 1% del PV de maíz molido y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

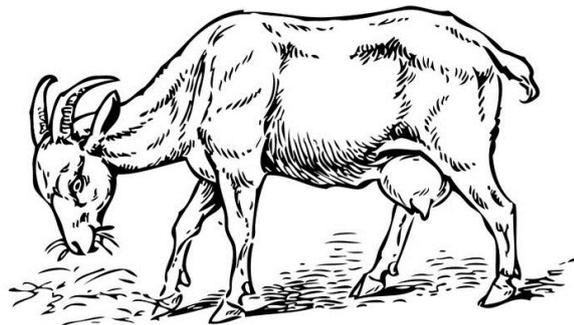
M₃: 1,5% del PV de maíz molido y heno de alfalfa *ad libitum* en la dieta.

EE: error estándar (0,079)

CAPÍTULO IV

Efecto de anticuerpos policlonales multivalentes de origen aviar.

- **Experimento IV.I:** Efecto de anticuerpos policlonales multivalentes de origen aviar sobre la degradabilidad ruminal *in situ* de la FDN y FDA del heno de alfalfa en dietas que incluyen grano de maíz molido.
- **Experimento IV.II:** Efecto de anticuerpos policlonales multivalentes de origen aviar, sobre parámetros de fermentación ruminal (pH, nitrógeno amoniacal, ácidos grasos volátiles) y la población microbiana.
- **Experimento IV.III:** Uso de anticuerpos policlonales multivalentes de origen aviar como atenuante del efecto depresor del maíz molido, sobre la digestibilidad de la fibra.



INTRODUCCIÓN

Los procesos de fermentación ruminal desempeñan un papel clave en la alimentación de los rumiantes. La simbiosis entre el rumiante y la microflora ruminal le otorga varias ventajas en los procesos digestivos y metabólicos respecto a los no rumiantes.

El grado de complejidad de las interacciones entre los diversos grupos de microorganismos que habitan en el rumen es tal que, aún hoy en día algunas vías y microorganismos implicados son desconocidos. Durante décadas, los especialistas en nutrición de rumiantes han soñado con la posibilidad de controlar algunos procesos metabólicos en el rumen, con el objetivo de lograr una mayor eficiencia en la utilización de nutrientes. Por esta razón, se llevó a cabo una extensa investigación en el área de la microbiología del rumen, y como resultado de ello, es uno de los ecosistemas microbianos más extensamente estudiados (Nagaraja, 2003). En la última década se ha producido un avance considerable en el conocimiento de la diversidad existente en los distintos grupos filogenéticos del ecosistema microbiano ruminal, y de los cambios que sufre como consecuencia de modificaciones en la dieta (Denmand & McSweeney, 2015).

Uno de los trastornos digestivos más frecuentes que puede afectar a los rumiantes, producto de la incorporación de concentrados energéticos en las dietas, es la acidosis. Existen dos tipos de acidosis: aguda y subaguda o crónica. En la acidosis aguda, el ganado consume grandes cantidades de cereales, ricos en almidón y aumenta la producción de AGV del rumen (Galyean & Rivera, 2003). Además, la concentración ruminal de ácido láctico es abruptamente mayor y, de este resultado y del aumento de la producción de AGV se observa una drástica disminución del pH ruminal. Cuando la concentración de ácido láctico es superior a 40 mM (isómeros D o L) se considera un reflejo de la acidosis aguda (Owens et al., 1998). Un pH de 5.5 es considerado como el umbral por debajo del cual el ácido láctico es producido por bacterias como *Streptococcus bovis* y *Lactobacillus spp*, al mismo tiempo que, el crecimiento de bacterias consumidoras de lactato se inhibe. *Streptococcus bovis* es una bacteria Gram positiva que juega un papel importante en el desarrollo de trastornos digestivos del rumen, así como en la fermentación ruminal del almidón y la proteína (Russell et al., 1981; Owens et al., 1998; Nagaraja & Titgemeyer, 2007). Los cambios en el recuento

ruminal de *S. bovis* pueden afectar la cinética ruminal y de la digestión de ciertas fracciones de la dieta, creando un cambio en el sitio de la digestión, y afectando la eficiencia general en la utilización de los nutrientes. Por lo tanto, independientemente del tipo de dieta, cuando el pH ruminal cae por debajo de 5,5 se espera que la acumulación de ácido láctico aumente (Slyter, 1976; Nagaraja, 2003).

Un pH de 5,2 o inferior se considera el umbral de la acidosis aguda (Owens et al., 1998; Galyean & Rivera, 2003). La acidosis ruminal aguda provoca la migración del ácido láctico a la sangre debido a una diferencia de osmolalidad entre el rumen y el torrente sanguíneo. Si el animal no es capaz de restaurar la homeostasis, puede ocurrir la muerte del mismo (Galyean & Eng, 1998).

En el caso de la acidosis sub-aguda o crónica, el ganado no muestra signos externos de la enfermedad, pero a menudo su rendimiento se reduce. Un pH de 5,6 se considera el umbral para la acidosis sub-aguda (Owens et al., 1998; Galyean & Rivera, 2003; Krause & Oetzel, 2006).

Para sortear estas situaciones problemáticas, desde hace varios años, se utilizan diferentes tipos de aditivos en la alimentación animal. La denominación de aditivo, es un término genérico aplicado a los compuestos de diversos orígenes destinados a reducir el impacto de los trastornos digestivos, o para aumentar la eficiencia productiva del ganado y de las aves de corral (DiCostanzo et al., 1996). Sus principales efectos son la mejora de la eficiencia de utilización del alimento, la reducción de los abscesos hepáticos y el control de la laminitis. Algunos de ellos son beneficiosos por sus efectos secundarios, contribuyendo en la reducción de la incidencia de acidosis, coccidiosis y empaste provocado por los granos. Los aditivos se pueden dividir en cuatro categorías generales: 1) Ionóforos; 2) antibióticos, 3) inhibidores del estrógeno, y 4) buffers.

Los ionóforos son químicamente clasificados como antibióticos poliéteres y los más comunes utilizados en la industria de la carne son propionato de laidlomycina (Cattlyst; Alpharma Inc., Fort Lee, Nueva Jersey), monensina sódica (Rumensin, productos Elanco, Indianapolis, IN), y lasalocid (Bovatec; Alpharma Inc., Fort Lee, NJ).

Los ionóforos son agentes químicos que aumentan la permeabilidad de las membranas lipídicas a iones específicos. En general, el principal efecto de los ionóforos es la reducción de las bacterias Gram positivas (principales productoras de lactato), debido a la alteración del flujo de cationes a través de sus membranas celulares (Bergen & Bates, 1984).

Los antibióticos son compuestos químicos que suelen ser derivados de sustancias producidas por un hongo o una bacteria, capaces de matar o inhibir el crecimiento bacteriano. Muchos antibióticos de los que se usan hoy en día son sintéticos, sin embargo, algunos pueden ser de origen natural. Los antibióticos tienen tres modos principales de acción: inhibición de la formación de la pared celular bacteriana, alteración de la síntesis proteica y de la replicación de material genético en el microorganismo. Uno de los usos más comunes de los antibióticos, en el ganado estabulado, es evitar los abscesos hepáticos, causados principalmente por *Fusobacterium necrophorum* y *Actinomyces pyogenes*, (Nagaraja & Chengappa, 1998).

En la alimentación de rumiantes, el rendimiento de los animales está fuertemente influenciado por el tipo y la calidad de la fermentación ruminal. Dada la importancia de mantener un rumen sano y propicio a la fermentación, la manipulación cuidadosa de estos procesos se vuelve crítica para los nutricionistas. Por ejemplo, la pérdida de energía debido a la producción de metano puede representar hasta un 12% de la energía de alimentación y está demostrado que los ionóforos pueden reducir esta pérdida hasta en un 30%. En las últimas cuatro décadas, la inclusión de ionóforos como aditivo en la alimentación de rumiantes, se ha convertido en una práctica común en la manipulación de la fermentación ruminal, aumentando así la eficiencia digestiva y la productividad (Russell & Strobel, 1989).

La creciente preocupación sobre el uso de antibióticos en la ganadería ha dado lugar en algunos países, a la prohibición del uso de antimicrobianos como promotores de crecimiento (Houlihan & Russell, 2003). Debido a la importancia del impacto económico de los ionóforos en la alimentación animal, fue necesario desarrollar nuevos aditivos que realicen funciones similares a los mismos sin generar resistencia (Newbold, 2007). La búsqueda de nuevas tecnologías destinadas a controlar e incidir sobre el desarrollo de grupos específicos de microorganismos ruminales, pueden ser una alternativa válida hacia futuras restricciones sobre el uso de antibióticos, las preocupaciones ambientales y el cuidado de los animales.

La inmunización contra las bacterias productoras de ácido láctico fue eficaz para reducir el riesgo de acidosis láctica en bovinos y ovejas alimentadas con elevada proporción de granos (Shu et al., 1999; Gill et al., 2000). Alimentar con polvo de calostro de vacas o yema de huevo de gallinas inmunizadas contra el coronavirus bovino fue eficaz en la reducción de la diarrea inducida por coronavirus bovino en

terneros recién nacidos (Ikemori et al., 1997). Estos estudios demostraron el potencial de las técnicas de inmunización pasiva en la protección contra patógenos específicos (Ikemori et al., 1992; Lee et al., 2002).

El concepto de la inmunidad como una potencial herramienta en la manipulación de la fermentación ruminal se ha citado anteriormente (Hardy, 2002; Berghman & Waghela, 2004). En ovejas alimentadas con una dieta energética e inmunizadas contra *Streptococcus bovis* vía intramuscular, se ha observado valores más elevados de ingesta de materia seca y pH ruminal, e inferiores concentraciones de lactato (Gill et al., 2000).

En este sentido se han usado recientemente anticuerpos policlonales de origen aviar (PAP) en bovinos. Las dosis orales de estos anticuerpos (PAP) contra *Streptococcus bovis* y *Fusobacterium necrophorum* fueron eficaces en la reducción de los recuentos de estas bacterias, además de observar un efecto modulador de pH ruminal en novillos alimentados con dietas que incluían alta concentración de granos. La reducción en el recuento de *S. bovis*, podría atenuar la disminución en la digestibilidad de la fibra, sin embargo aún no se han evaluado parámetros de digestibilidad *in vivo* en estos experimentos. Asimismo, a pesar de los efectos moduladores del pH, otros parámetros de fermentación ruminal no fueron modificados con la adición de PAP específicos contra *S. bovis*, lo cual podría indicar el alto grado de resiliencia de este ecosistema (DiLorenzo et al., 2006; DiLorenzo, 2007).

Hasta el presente se han probado *in vitro* anticuerpos formulados contra una variedad de inmunógenos, llamados anticuerpos policlonales multivalentes de origen aviar (PAP-MV), como alternativa al uso de los PAP, los cuales han arrojado resultados promisorios en estas determinaciones (DiLorenzo, 2008). Blanch et al., (2009) mediante estudios *in vitro* han demostrado mediante un preparado a base de PAP-MV, la reducción de las fluctuaciones de pH asociados a los cambios bruscos de una dieta a base de forrajes a una alta en concentrados. En este estudio también se observó una reducción de la población ruminal de *S. bovis*. En bovinos, un aumento del pH ruminal ha logrado un incremento en la digestión de la proteína y de la fibra (Stewart, 1977; Okeke et al., 1983; Harrison et al., 1976; Rogers et al., 1982). No obstante estos antecedentes, ninguno de estos productos ha sido ensayado en cabras. Dadas las diferencias y semejanzas en la fisiología digestiva de caprinos y bovinos, merecería ser investigada en detalle la acción del PAP-MV sobre la digestibilidad de la fibra y el pH ruminal en la especie caprina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron cuatro cabras cruzas criollas con Anglo Nubian, no gestantes, secas de 5 años de edad y $45,07 \pm 1,52$ Kg de PV. Fueron fistuladas ruminalmente con cánulas permanentes, marca Bar Diamond Inc. de 5" de diámetro (figura 4). El diseño experimental utilizado fue el cuadrado latino 4x4 replicado, con 7 días de *wash out* entre períodos. Durante el tiempo en que se realizaron las determinaciones, las cabras fueron alojadas en compartimentos individuales (0,80m x 1,50m) con piso rejilla de madera (listones), comederos, pasteras y bebederos automáticos tipo chupete con libre acceso al agua. Se registró el peso de cada animal al comienzo de cada período.

La composición de los alimentos utilizados en estas experiencias se registró en la tabla 1 del capítulo II (pág. 58).

Preparación del PAP-MV y dosis probadas:

En este estudio se pone a prueba por primera vez el uso de anticuerpos policlonales de origen aviar multivalente (PAP-MV), obtenidos por la misma metodología que los ya mencionados (PAP) (CAMAS Inc., Le Center Minnesota, USA) pero para una mayor variedad de inmunógenos. Estos inmunógenos fueron obtenidos aislados y purificados a partir de bacterias para ser inyectados en gallinas ponedoras.

Las bacterias utilizadas fueron *Streptococcus bovis* (ATCC 9809), productora principalmente de ácido láctico; *Fusobacterium necrophorum* (ATCC 27852), que participa en el desarrollo de abscesos hepáticos; *Clostridium stricklandii* (ATCC 12662), *Clostridium aminophilum* (ATCC 49906), *Peptostreptococcus anaerobius* (ATCC 49031) bacterias productoras de amoníaco y *Escherichia coli* O157: H7 (ATCC 43895) un patógeno humano que en determinadas condiciones se desarrolla en los rumiantes.

Más de 600 gallinas fueron inmunizadas con cada inmunógeno de las bacterias mencionadas precedentemente. Los huevos recolectados se analizaron semanalmente por placas ELISA específicas para verificar la unión del anticuerpo.

Se seleccionaron al azar 200 gallinas cuyos huevos fueron recolectados durante tres días para la elaboración del producto PAP-MV. Las especificaciones se observan en la tabla IV.1.

Se probaron tres dosis de PAP-MV (1, 2 y 3 g del producto total/día/cabra), suministradas a una dieta a base de heno de alfalfa y maíz molido, más un tratamiento control sin PAP-MV. Los tratamientos fueron:

0 g PAP-MV/día/cabra (P₀)

1 g PAP-MV/día/cabra (P₁)

2 g PAP-MV/día/cabra (P₂)

3 g PAP-MV/día/cabra (P₃)

Cada dosis fue disuelta en 15 ml de agua destilada, utilizando como placebo en la dosis P₀ solo agua destilada.

Dieta utilizada:

En todos los tratamientos el heno base alfalfa fue suministrado *ad-libitum* y el grano de maíz molido al 1% del PV diario. La elección de esta dieta se hizo a partir de sus efectos asociativos negativos, verificados en los capítulos precedentes.

Se implementó un período de quince días de acostumbramiento a cada tratamiento, previo a la toma de las muestras. Las cantidades de maíz se suministraron en forma creciente, iniciando con 70 g por animal por día, hasta alcanzar la cantidad previamente estipulada. Las dietas fueron suministradas en una única entrega a las 9 AM de cada día. Se determinó la MS del heno de alfalfa y del grano según AOAC, (1995).

Análisis estadístico:

Para evaluar el efecto de las distintas dosis de PAP-MV, se utilizó el siguiente modelo:

$$Y = \mu + T + UE + P + e$$

Y: variable dependiente

μ : media general del ensayo

T: tratamiento

UE: unidad experimental

P: período

e: error

Los datos fueron analizados por el procedimiento MIXED SAS (SAS, 2004) para un cuadrado latino 4×4 replicado, utilizando un modelo mixto que incluyó el efecto fijo del muestreo (tratamiento, período) y el efecto aleatorio del animal. Se usaron contrastes ortogonales para determinar efectos lineales (L), cuadráticos (Q) y cúbicos (C) de las diferentes dosis de PAP-MV. Se utilizó el test Tuckey para el análisis de comparación de medias. Las diferencias se consideraron significativas para valores de $p < 0,05$, y tendencias para valores de p ente 0,05 y 0,10.

Se realizaron regresiones lineales simples para determinar el grado de correlación entre el área bajo la curva (para un pH umbral de 6) y la digestibilidad de la fibra; entre esa misma área bajo la curva y la digestibilidad de la PB.

Experimento IV.I: Efecto de PAP-MV en la degradabilidad ruminal *in situ* sobre la FDN y FDA del heno base alfalfa, en dietas que incluyen grano molido de maíz.

Determinación de la degradabilidad ruminal *in situ*: Para la degradabilidad *in situ* de la MS, la FDN y la FDA del heno base alfalfa, se utilizó la técnica de Ørskov et al. (1980). Se utilizaron bolsas de poliéster, marca Ankom, de 10 x 10 cm, de 40 a 60 micras de tamaño de poro lo cual impide la salida del alimento sin afectar la libre entrada de los microorganismos. Dentro de las bolsas, se colocaron de 10 mg/cm² de muestra de heno base alfalfa para asegurar un contacto adecuado de la muestra con el fluido ruminal (Vanzant et al., 1998; Galina et al., 2004; Loveday et al., 2006; Galyean, 2010). El forraje fue incubado por un periodo de 24 y 48 h (Li., et al, 2011), al final de las cuales el material fue retirado del rumen y lavado durante períodos de 10 minutos hasta que el fluido fue transparente. Posteriormente se secó a 65°C durante 48 horas. La degradabilidad se determinó a partir de la diferencia de peso de la fracción antes y después de la incubación *in situ* en las bolsas de nylon. Post incubación, se determinó FDA, FDN, siguiendo la técnica de Van Soest (1991) modificada por Komarek (1994) utilizando un equipo analizador de fibra marca Ankom 200, se utilizó α -amilasa termoestable (Sigma A3306) y sulfito de sodio para la determinación de FDN. Posteriormente se calcularon los coeficientes de degradabilidad de dichas fracciones.

Experimento IV.II: Efecto de PAP-MV, sobre parámetros de fermentación ruminal (pH, nitrógeno amoniacal, ácidos grasos volátiles y cuantificación de *Streptococcus bovis*).

Determinación de pH ruminal: Se extrajo fluido ruminal mediante cánula con bomba de vacío a las 0, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 horas posteriores al suministro de la ración y las muestras obtenidas se filtraron a través de cuatro capas de tela de queso. Se determinó el pH utilizando un peachímetro digital (Silver Cap pH 5045-3B) equipado con electrodo de punción y termo sonda calibrado con solución buffer a pH 4 y 7. Se calculó el área bajo la curva, como la sumatoria de las áreas parciales definidas por el valor absoluto de la desviación por debajo de pH 6 y el intervalo de tiempo real entre muestreos consecutivos, abarcando un lapso total de 24 horas, reportada como $\text{pH} \times \text{tiempo de muestreo/día}$ (Pitt y Pell, 1997). Se calculó el valor promedio de pH ruminal, tiempo en horas con pH por debajo del valor 6 y mediante un modelo de medidas repetidas (Littell et al., 1998) el efecto del tiempo (horas) pos alimentación y la interacción hora/tratamiento.

Ácidos Grasos volátiles: Para la determinación de los ácidos grasos volátiles (AGV) se extrajeron 20 ml de líquido ruminal mediante cánula. La muestra fue purificada con ácido ortofosfórico 25% en ácido sulfúrico 0,5 M, a razón de 0,5 ml cada 2 ml de muestra y centrifugadas por 10 minutos a 5000 g (Friggens et al., 1998).

Mediante cromatografía gaseosa, se utilizó un equipo Konik 5000B con automuestreador Robokrom GC; patrón de referencia Sigma Cat. Nro. 46975-U, para cuantificar los siguientes ácidos: acético, propiónico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico. Se calculó la relación acético/propiónico.

Nitrógeno amoniacal: El N-NH₃ del fluido ruminal se analizó mediante la técnica de Chaney & Marbach (1962).

Cuantificación de *Streptococcus bovis*:

Para la identificación y cuantificación de bacterias ruminales como *Streptococcus bovis* se utilizó la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-RT). La misma permite visualizar de forma inmediata cada ciclo de

amplificación, a través de la aparición de una señal de fluorescencia y determinar la concentración de ADN presente en una muestra (Pfaffl, 2001). La cantidad de ADN de un microorganismo, al igual que la concentración de un gen en una muestra, se evalúan mediante la determinación de un valor Ct (Ciclo umbral) en cada ciclo de amplificación.

Este valor Ct es el ciclo de la PCR en el cual la fluorescencia es detectada y se correlaciona con la concentración del producto de ADN amplificado (Kubista et al., 2006). Así, el valor Ct es inversamente proporcional a la cantidad de ADN presente en una muestra, lo que significa que una alta concentración de ADN tendrá un valor Ct menor que se expresa y visualiza tempranamente (por una señal de fluorescencia) (Larionov et al., 2005; Kubista et al., 2006; Dorak, 2006).

Extracción de ADN. Extracción y purificación de ADN: el ADN se obtuvo utilizando un kit de extracción marca PURO-Bacteria (Laboratorio Productos Biológicos). La pureza del ADN se determinó estableciendo la relación de absorbancia 260/280 entre un rango de 1.8 – 2.0.

Validación de iniciadores especie-específico. Para la validación de *Streptococcus bovis* se realizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para lo que se utilizó un termociclador PTC-100 TM MJ Research, Inc. Los iniciadores (Tabla IV.2) se utilizaron a una concentración de 10 μ M y se trabajó con un volumen final de reacción de 50 μ L. A los productos amplificados se les realizó electroforesis con la utilización de geles de agarosa al 2 % para comprobar, mediante la ausencia o presencia de bandas, si ocurrió o no la amplificación.

Curvas de calibración: Para determinar el conteo de *S.bovis* se realizaron diluciones de líquido ruminal fueron incubadas en 10 ml del medio de cultivo específico de acuerdo al procedimiento por Grubb & Dehority (1976), seguido por el procedimiento del *roll tube* de Hungate (1966). Los *roll tube* inoculados fueron incubados durante 5 días a 39°C en condiciones de anaerobiosis. Para el recuento de colonias se utilizó un microscopio de disección y fue estimado por medio del procedimiento del número más probable (Bryant & Robinson, 1961). Por ser una bacteria amilolítica se utilizó la reacción del iodo lugol para determinar la digestión del

almidón (Persia et al., 2002). El conteo arrojó un valor de 7×10^6 *S.bovis* ml de líquido ruminal.

Para realizar la curva de calibración de la PCR-RT, a partir del ADN obtenido del cultivo de *S. bovis* aislado y cuantificado de líquido ruminal, se utilizaron 5 diluciones seriadas: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} . Esto permitió relacionar linealmente el Ct de cada muestra con la concentración de ADN en escala logarítmica (Figura IV.1).

Se utilizó el amplificador de fluorescencia Sybr Green 490 y los iniciadores se emplearon a una concentración de 10 mM. El volumen final de reacción fue de 25 μ L. La amplificación de los ADN se realizaron en un termociclador Cycler iQ (Bio-RAD). El protocolo utilizado consta en la tabla VI.3 y los componentes de la premezcla utilizada se detallan en la tabla IV.4.

Posteriormente, a partir de la curva de calibración así obtenida, se procedió a determinar la carga bacteriana correspondiente al valor de Ct de cada muestra analizada.

Experimento IV.III: Uso de PAP-MV como atenuante del efecto depresor del maíz molido sobre la digestibilidad de la fibra.

Determinación del consumo y de la digestibilidad total aparente in vivo de la MS y de las fracciones FDN, FDA y PB.

La determinación del consumo de forraje se realizó durante los 4 días de colecta de heces, posteriores al período de acostumbramiento a los diferentes tratamientos. Para asegurar el carácter *ad libitum* del suministro, las pasteras se mantuvieron constantemente provistas, registrándose las cantidades de heno agregadas para tal fin, utilizando una balanza electrónica marca Systel modelo Croma (peso mín 0,1 Kg peso máx. 30 kg). El heno fue recolectado y pesado diariamente expresando su valor en kg de MS.

El CMST se obtuvo sumando la materia seca aportada por el heno (CMSF) y por el maíz (CMSMz) expresado como % del PV.

La relación F/C fue calculada como el aporte relativo del heno y del concentrado al CMST.

Para la determinación de la DTAIV de la MS consumida y de sus fracciones (FDN, FDA y PB) se siguieron los mismos procedimientos que en los experimentos del capítulo II.

Análisis químicos

Como en los experimentos del capítulo I, cada muestra de materia fecal fue compuesta por submuestras de los 4 días de colecta, y molida con un molino de malla de 1mm.

Para la determinación de FDA y FDN, se siguió la técnica de Van Soest modificada por Komarek (1994), utilizando un equipo analizador de fibra marca Ankom modelo 200. Se utilizó α -amilasa termoestable (Sigma A3306) y sulfito de sodio para la determinación de FDN. Se realizó la determinación de nitrógeno total según método de Kjeldahl-N, según AOAC (1995) al que se multiplicó x 6,25 para obtener el valor de PB. Se determinó cenizas según AOAC (1990) y se obtuvo el valor de la materia orgánica restándole al valor de la materia seca el dato de ceniza obtenido.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento IV.I: Mediante un análisis de contrastes ortogonales polinomiales no se pudo constatar una variación ni L, ni Q, ni C, ($p>0,05$) de la degradabilidad *in situ* de la MS del heno base alfalfa a las 24 y 48 horas post incubación ruminal, atribuible a un incremento de 0 a 3 g/día de PAP-MV en la dieta. En el análisis de comparación de medias no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) entre tratamientos para las mismas variables analizadas. Un aumento de PAP-MV en la dieta provocó una variación tendiendo a cúbica ($p=0,090$) a las 24 h de incubación ruminal y significativamente ($p<0,05$) cúbica a las 48. El incremento de la concentración del anticuerpo, provocó una variación cúbica ($p<0,05$) de la degradabilidad *in situ* de la FDA contenida en el heno. La comparación de medias no arrojó diferencias significativas ($p>0,05$) para la degradabilidad ruminal *in situ* de la FDN del heno entre los tratamientos, a las 24 h de incubación. La degradabilidad ruminal de la FDN a las 48 h de incubación fue significativamente mayor ($p<0,05$) en la dieta P₃. A las 24 y 48 h la degradabilidad

ruminal de FDA del heno en la dieta P₃ la que fue significativamente mayor ($p < 0,05$) que la de las dietas P₀ y P₂, confirmando el efecto cúbico sobre la degradabilidad ruminal, del incremento de la concentración de PAP-MV (Tabla IV.5).

Experimento IV.II: Mediante el análisis de contrastes ortogonales polinomiales no se observaron efectos significativos ($p > 0,05$) para las diferentes concentraciones de PAP-MV sobre el área bajo la curva para un pH ruminal umbral de 5,8. Sin embargo, para un pH umbral de 6, se verificó una disminución lineal significativa ($p < 0,05$) del el área bajo la curva con el incremento de PAP-MV en la dieta de 0 a 3 g/día. Sobre el pH ruminal promedio del día no se verificaron efectos significativos ($p > 0,05$).

Las área medias bajo la curva, considerando un pH umbral de 6, presentaron una tendencia ($p = 0,097$) a la disminución en función de crecientes dosis de PAP-MV. Para los otros parámetros analizados no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) (Tabla IV.6). Se observó pos ingesta de la ración un efecto significativo ($p > 0,05$) de la hora sobre el valor del pH ruminal (Tabla IV.7), sin interacción significativa ($p > 0,05$) entre hora y tratamiento (Figura IV.2).

El incremento de PAP-MV en la dieta no provocó efectos ($p > 0,05$) ni L, ni Q y ni C sobre el total de ácidos grasos volátiles (AGVt), sobre cada uno de ellos, ni sobre el nitrógeno amoniacal (N-NH₃) (Tabla IV.8). Mediante un modelo de unidades repetidas en el tiempo, para evaluar el efecto de la hora sobre los AGV, se verificó que los ácidos C₂, C₃ y los AGVt aumentaron significativamente ($p < 0,05$) entre la hora 0 y 6. La relación C₂/C₃ fue significativamente menor ($p < 0,05$) a las 6 horas post ingesta de la ración (Tabla IV.9). No se verificó efecto del tratamiento ($p > 0,05$) ni interacción hora y tratamiento ($p > 0,05$) (Figuras IV.3, IV.4, IV.5, IV.6 y IV.7). El ácido C₄ registró iguales concentraciones molares ($p > 0,05$) para ambas horas.

Concentraciones crecientes de PAP-MV tendieron ($p = 0,066$) a aumentar linealmente los valores de Ct, atribuibles a menores cantidades de ADN de *S. bovis* (Ct.Sb). Se registró una tendencia a aumentar los ciclos de la PCR en el cual la fluorescencia fue detectada con el incremento de PAP-MV en la dieta. Así mismo, se verificó una tendencia ($p = 0,095$) de los valores de Ct de *S. bovis* del tratamiento P₃ a ser superiores a los del tratamiento P₀ (Tabla IV.10). En la figura IV.8 se observa los valores de Ct expresados como Log₁₀ [Sb]/ml líquido ruminal para cada tratamiento.

Las curvas de Ct y de T° de disociación se observan en las figuras IV.9 y V.10 respectivamente.

Experimento IV.III: Mediante el análisis de contrastes ortogonales polinomiales, no se observaron efectos significativos ($p > 0,05$) sobre el CMST/PV, CMSTD, CMSF, CTFDN, CTFDA, CTPB y F/C para las diferentes dosis de PAP-MV probadas. El análisis de comparación de medias, no demostró diferencias significativas ($p > 0,05$) para los mismos parámetros analizados en los distintos tratamientos (Tabla IV.11).

No se registraron efectos significativos ($p > 0,05$) de carácter lineal, cuadrático ni cúbico de la concentración de PAP-MV en la dieta sobre la DTAIV de la MS, MO y del almidón. En la DTAIV de la PB, se observó un aumento lineal significativo ($p < 0,05$) con el incremento 0 a 3 gr/día de dicho anticuerpo. Sobre la DTAIV de la FDA y FDN se observó una tendencia ($p = 0,063$ y $p = 0,086$ respectivamente) en mismo sentido. La ausencia total de anticuerpo (P_0) redujo significativamente ($p < 0,05$) la DTAIV media de la PB respecto al del resto de los tratamientos (Tabla IV.12).

Un análisis de regresión lineal simple mostró una correlación significativa ($p < 0,05$) entre el área bajo la curva de pH ruminal y la DTAIV de la FDA (Figura IV.11). El coeficiente de correlación fue $-0,726$ indicando una relación moderadamente fuerte entre las variables analizadas (Tabla IV.13). El mismo análisis mostró una tendencia ($p = 0,085$) en igual sentido para la DTAIV de la FDN (Figura IV.12 y Tabla IV.14).

El análisis de regresión lineal simple mostró correlación significativa ($p < 0,05$) entre el área bajo la curva del pH ruminal y la DTAIV de la PB (Figura IV.13). El coeficiente de correlación fue igual $-0,579$, indicando una relación moderadamente fuerte entre las variables (Tabla IV.15).

Degradabilidad ruminal *in situ* del heno de alfalfa: En el experimento IV.I se observó una mejora en la degradabilidad ruminal de la FDN y FDA del heno de alfalfa con las dosis 1gr/día y 3gr/día. Si bien no está claro por qué la dosis 2 gr/día se comportó como el tratamiento testigo, esto podría deberse a un fenómeno de aglutinación de PAP-MV a mayores títulos de anticuerpos (DiLorenzo et al., 2005). Esta teoría, sin embargo, no explicaría por qué la dosis de 3 gr/día mejoró la degradabilidad de la fibra, pero es posible que con esta dosis hubo mayores sitios de

unión del anticuerpo para superar la aglutinación del mismo. DiLorenzo (2008) utilizando anticuerpos de origen aviar en dietas con más del 80% de maíz, reportó que la desaparición ruminal *in situ* de la MS fue menor en las dietas que incluían PAP. En este estudio, si bien sin diferencias significativas entre tratamientos, la desaparición de la MS del heno de alfalfa fue un 12,9 % mayor en las cabras que recibieron la dosis máxima de PAP-MV respecto a la dieta testigo. Probablemente esto se deba, a que la incorporación del anticuerpo a la dieta haya generado un ambiente ruminal más propicio para la celulólisis en particular, tal como lo demuestran los valores de pH ruminal.

Efecto sobre el pH ruminal: Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con Gill et al., (2000), Shu et al., (2000), DiLorenzo et al., (2005); DiLorenzo et al., (2006) quienes demostraron que, la vacunación o la suplementación oral de anticuerpos policlonales contra *S. bovis* en rumiantes, indujeron valores mayores de pH ruminal que en animales no tratados. La particularidades anatómicas y fisiológicas de la especie caprina reportadas por Silanikove, (2000) y Vaithyanathan et al. (2001), podrían ser las responsables de la falta de distinción entre los pH diarios medios registrados para cada dosis. No obstante, estas diferencias sí son evidentes en las áreas bajo la curva de cada tratamiento, lo cual, por otra parte tendría mayor implicancia en la ecología ruminal.

Un pH ruminal inferior a 6 por más de 6 h post-alimentación se observó en las cabras que recibieron la dieta control, mientras que las tratadas estuvieron solo 4 horas. En coincidencia con lo informado por Kovacik et al., (1986) un pH ruminal de 6 se ha establecido como el umbral por debajo del cual tanto la proteína como la actividad celulolítica se reducen considerablemente. En este sentido los experimentos realizados en este trabajo corroborarían lo establecido por Kovacik a través de la disminución de la degradabilidad ruminal *in situ* del heno de alfalfa y de la digestibilidad total aparente de la fibra observadas en los diferentes tratamientos.

Efecto sobre AGV y N-NH₃: En coincidencia con los trabajos anteriormente reportados por DiLorenzo et al., (2005a), DiLorenzo (2008), dosis crecientes de PAP-MV no afectaron las concentraciones de los AGV. Si bien no se verificaron diferencias significativas en C2 entre tratamientos, se observó incremento numérico de 12,89% entre el testigo y la máxima dosis. Este incremento podría interpretarse más como un resultado de una mayor actividad celulítica que como un factor determinante del área bajo la curva de un pH umbral de 6.

Se coincide con DiLorenzo (2008), que la incorporación de dosis crecientes de anticuerpos en dietas con alto contenido de forraje, no modificaron significativamente el perfil de NH₃-N. No obstante al momento de comparar los niveles de NH₃-N en rumen, se ha corroborado en caprinos concentraciones significativamente superiores que en bovinos (Brun-Bellut et al., 1991; Cantalapiedra et al., 2009). Esto podría tomarse como indicador de una mayor secreción salival, por un lado y de un mayor poder buffer, por otro (Silanikove, 2000; Vaithyanathan et al., 2001).

Efectos sobre *S. bovis*: Los recuentos de *S. bovis*, mediante la técnica del número más probable a fin de construir la curva de calibración requerida para la cuantificación mediante la técnica de PCR-TR, arrojó un valor de 7×10^6 bacterias/ml de líquido ruminal. Esto coincide con recuentos numéricos de *S. bovis* en bovinos que según investigaciones realizadas por Dehority (2003), no tienden a desviarse mucho de 10^6 a 10^7 /ml, y a menudo son similares en animales alimentados con concentrados energéticos como con forraje. La dieta diseñada como testigo compuesta por heno de alfalfa y maíz molido al 1% del PV en el presente estudio, resultó adecuada para inducir concentraciones de *S. bovis* similares a las constatadas en bovinos.

La administración de PAP-MV durante más de 10 días produjo una tendencia a la reducción de los conteos de *S. bovis*, similar a lo verificado por DiLorenzo et al. (2005a; 2006; 2008) con dosis de 2,5 ml de PAP/día y Blanch et al., (2009). Los mecanismos hipotéticos que explicarían la reducción de los recuentos de bacterias ruminales (DiLorenzo et al., 2006) podría estar relacionado con la actividad de unión del antígeno (*S. bovis*) con el PAP y una posterior inhibición del crecimiento bacteriano. Esta acción del anticuerpo ha sido demostrada previamente tanto *in vitro* como *in vivo* por Kuroki et al., (1997); Sunwoo et al., (2002); Cook et al., (2005). A diferencia del carácter cúbico del efecto de la dosis de anticuerpos sobre los recuentos de *S. bovis* hallados por DiLorenzo et al., (2006), en este estudio se constató una tendencia lineal a disminuir el recuento de dicha bacteria con el incremento de PAP-MV. Particularmente el efecto registrado de dosis crecientes de PAP-MV sobre la degradabilidad ruminal de la fibra, fue de carácter cubico.

Si bien, como se mencionó anteriormente, el efecto inhibitorio de los anticuerpos no está del todo claro y la reducción numérica de *S. bovis* verificada se reduce a una tendencia, el análisis de regresión lineal entre área bajo la curva del pH umbral y la digestibilidad de la fibra evidenció una fuerte relación inversa entre ambas variables.

Esto podría atribuirse a una disminución de la actividad amilolítica bacteriana producto de la acción del PAP-MV en la dieta.

Efecto sobre consumo y digestibilidad: La incorporación de PAP-MV en dietas para cabras no modificó el consumo total de materia seca, en coincidencia con los trabajos realizados en bovinos por DiLorenzo (2008) y Blanch et al., (2009), a diferencia del incremento observado por Gill et al., (2000), Shu et al., (2000) en ovinos y bovinos respectivamente.

Un aumento del pH ruminal manifestado como menores áreas bajo la curva de un pH umbral 6, indujo una mejora en la digestibilidad de la fibra y la proteína en concordancia con Stewart, (1977); Harrison et al., (1976); Rogers et al., (1982); Okeke et al., (1983). La mejora en la digestibilidad de la fracción proteica podría explicarse por un efecto moderador del PAP-MV sobre la acción proteolítica de *S. bovis*. La cual ha sido verificada por los resultados obtenidos por Russell et al., (1981); (Russell & Strobel (1989) y Russell & Rychlik, (2001). La disminución de la proteólisis por parte de la microflora ruminal favorecen la absorción intestinal de las proteínas (Otero e Hidalgo, 2004).

No se observó un efecto evidente del PAP-MV sobre la digestibilidad del almidón. Esto podría ser resultado de un enmascaramiento de la digestibilidad del mismo a nivel intestinal, la cual resulta elevada para los niveles de almidón aportados en la dieta, tal como lo refieren Harmon et al., (2004); Huntington et al., (2006). Por lo tanto cualquier posible diferencia de la degradabilidad del almidón a nivel ruminal, sería ampliamente compensada por su digestión intestinal.

CONCLUSIÓN

La administración de una preparación de anticuerpos policlonales multivalentes de origen aviar en las condiciones ensayadas afectó los parámetros ruminales con diversa intensidad. Los que resultaron más sensibles a su acción fueron el área bajo la curva de un pH umbral 6, degradabilidad ruminal de la fibra y la digestibilidad total aparente de la proteína. La diferencia entre los parámetros indicadores del metabolismo microbiano y del recuento, sugeriría una acción diferencial del anticuerpo sobre el nivel de actividad bacteriana más que sobre los recuentos en sí. Más allá de los efectos descritos, la incorporación de PAP-MV en dietas para caprinos no proporcionó ningún disturbio que pudiera afectar la salud ruminal.

BIBLIOGRAFÍA

1. **AOAC.** 1995. Dry mater in Animal Feed. Method number 934.01. In: Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th ed. vol. I. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA, pp, I (Chapter 4).
2. **AOAC.** 1995. Protein (Crude) in Animal Feed. Method number 990.03. In: Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th ed. vol. I. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA, pp, 10-11 (Chapter 4).
3. **AOAC.** 1990. Official Methods of Analysis of AOAC International. *15 th Edition.* Instituto Nacional de Normalización, NCh 1245.
4. **Bergen, W.G. & D.B. Bates.** 1984. Ionophores: their effect on production, efficiency and mode of action. *J. Anim. Sci.* 58: 1465-1883.
5. **Berghman, L. R. & S. D. Waghela.** 2004. Antibodies: an alternative for antibiotics? *J. Anim. Sci.* 82: 82. (Abstr.).
6. **Blanch, M., S. Calsamiglia, N. DiLorenzo, A. DiCostanzo, S. Muetzel & R. J. Wallace.** 2009. Physiological changes in rumen fermentation during acidosis induction and its control using a multivalent polyclonal antibody preparation in heifers. *J. Anim. Sci.* 87:1722–1730.
7. **Brun-Bellut, J., J.E. Lindberg & M. Hadjipanayiotou.**1991. Protein nutrition and requirements of adult dairy goats. In: Mohrand-Fehr, P. (ed.) *Goat Nutrition.* Pudoc, Wageningen, The Netherlands. pp. 82–93.
8. **Bryant, M. & I. Robinson.** 1961. An improved non-selective culture medium for ruminal bacteria and its use in determining diurnal variation in numbers of bacteria in the rumen. *J. Dairy Sci.* 44: 1446-1456.

9. **Cantalapiedra-Hijar, G., D. R. Yáñez-Ruiz, A. I. Martín-García & E. Molina-Alcaide.** 2009. Effects of forage: concentrate ratio and forage type on apparent digestibility, ruminal fermentation, and microbial growth in goats. *J Anim Sci.* 87: 622-631.
10. **Chaney A.L. & E. P. Marbach.** 1962. Modified Reagents for Determination of Urea and Ammonia. *Clinical Chemistry.* Vol. 8: (2) pp. 130-132.
11. **Cook, S. R., S. J. Bach, S. M. L. Stevenson, R. DeVinney, A. A. Frohlich, L. Fang & T. A. McAllister.** 2005. Orally administered anti-Escherichia coli O157:H7 chicken egg yolk antibodies reduce fecal shedding of the pathogen by ruminants. *Can. J. Anim. Sci.* 85:291-299.
12. **Denman, S & McSweeney C.** 2015. *Annu Rev. Anim. Biosci.* (en prensa)
13. **DiCostanzo, A., J. M. Cassady & C. M. Zehnder.** 1996. Utilization of approved feed additives in growing, finishing and replacement beef cattle diets. *Proc. 57th Minnesota Nutr. Conference, Bloomington, MN.* pp. 81-96.
14. **DiLorenzo, N., C. R. Dahlen, F. Diez-Gonzalez, G. C. Lamb, J. E. Larson, and A. DiCostanzo.** 2008. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on rumen fermentation patterns, performance, and carcass characteristics of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 86:3023-3032.
15. **DiLorenzo, N., C. R. Dahlen, J. E. Larson, R. K. Gill & A. DiCostanzo.** 2007. Effects of feeding a polyclonal antibody preparation against selected rumen bacteria on rumen pH of lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 85:135 (Abstr.).
16. **DiLorenzo, N., F. Diez-Gonzalez & A. DiCostanzo.** 2006. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on ruminal bacterial populations and ruminal pH of steers fed high-grain diets. *J. Anim. Sci.* 84:2178–2185.

- 17. DiLorenzo, N., R. K. Gill, F. Diez-Gonzalez, J. E. Larson & A. DiCostanzo.** 2005. Response by steers fed high-forage diets to oral doses of a polyclonal antibody preparation against *Streptococcus bovis* on target bacteria populations and rumen fermentation products. *J. Anim. Sci.* 83: 51 (Abstr.).
- 18. DiLorenzo, N.** 2008. PhD. Thesis. Modifications of the rumen microbial environment to improve cattle production efficiency. In: Chapter 4: Feeding an avian-derived polyclonal antibody preparation against *Streptococcus bovis* affects target bacteria in steers fed high-forage diets. pp. 111-141.
- 19. Dorak, M.T.** 2006. Real-time PCR. New York, EUA: Editorial Taylor & Francis Group. 326 pp.
- 20. Friggens, N.C., G.C. Emmans, I. Kyriazakis, J.D. Oldham & M. Lewis.** 1998. Feed Intake Relative to stage of Lactation for Dairy Cows Consuming Total Mixed Diets with a High or Low Ratio of Concentrate to Forage. *Journal of Dairy Science.* 81:2228-2239.
- 21. Galina, M.A., M. Guerrero, D.C. Puga & G.F.W. Haenlein.** 2004. Effect of a slow intake urea supplementation on growing kids feed corn stubble or alfalfa with a balanced concentrate. *Small Rum. Res.* 53 (1-2):29.
- 22. Galyean, M. L.** 2010. Laboratory Procedures in Animal Nutrition Research. Texas Tech Univ. http://apps.depts.ttu.edu/afs/home/mgalyean/lab_man.pdf. Último acceso Febrero, 2014.
- 23. Galyean, M. L. & K. S. Eng.** 1998. Application of research findings and summary of research needs – Bud Britton Memorial Symposium on Metabolic Disorders of Feedlot Cattle. *J. Anim. Sci.* 76: 323–327.
- 24. Galyean, M. L. & J. D. Rivera.** 2003. Nutritionally related disorders affecting feedlot cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 83: 13-20.

25. **Gill, H. S., Q. Shu & R. A. Leng.** 2000. Immunization with *Streptococcus bovis* protects against lactic acidosis in sheep. *Vaccine*; 18:2541-2548.
26. **Grubb, J. & B. Dehority.** 1976. Variation in colony counts of total viable anaerobic rumen bacteria influenced by media and cultural methods. *Appl Environ Microbiol.* 31: 262-267.
27. **Hardy, B.** 2002. The issue of antibiotic use in the livestock industry: what have we learned? *Animal Biotech.* 13:129-147.
28. **Harmon, D.L., R.M. Yamka & N.A Elam.**2004. Factors affecting intestinal starch digestion in ruminants: a review. *Can. J. Anim. Sci.* 84, 309–318.
29. **Houlihan, A. J., & J. B. Russell.** 2003. The susceptibility of ionophore-resistant *Clostridium aminophilum* F to other antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother.* 52:623-628.
30. **Hungate, R.** 1966. *The Rumen and its Microbes.* New York: Academic Press, 1966. 533 p.
31. **Huntington, G.B., D.L. Harmon & C.J. Richards.** 2006. Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. *J. Anim. Sci.* 84, E14–E24 E. Suppl.
32. **Ikemori, Y., M. Kuroki, R.C. Peralta, H. Yokoyama & Y. Kodama.** 1992. Protección de los terneros recién nacidos contra la colibacilosis entérica fatal por la administración de huevo en polvo de yema de gallinas inmunizadas con piliated-K99 de *Escherichia coli* enterotoxigénica. *Am. J. Vet. Res.* 53: 2005-2008.
33. **Ikemori, Y., M.O.K. Umeda, F.C. Icatlo Jr., M. Kuroki, H. Yokoyama & Y. Kodama.** 1997. La protección pasiva de los terneros recién nacidos contra la

diarrea inducida por coronavirus bovino-por la administración de la yema de huevo en polvo o anticuerpos del calostro. *Vet. Microbiol.* 58: 105-111.

34. **Komarek, A. R., J. B. Robertson & P. J. Van Soest.** 1994. Comparison of the filter bag technique to conventional filtration in the Van Soest Analysis of 21 feeds. In: *Proc. Natl. Conf. on Forage Quality, Evaluation and Utilization*, Lincoln, NE. pp.78.
35. **Kovacik, A.M., S.C. Loerch & B.A. Dehority.**1986. Effect of supplemental sodium bicarbonate on nutrient digestibility and ruminal pH measured continuously. *J. Anim. Sci.* 62:226–234.
36. **Krause, M. & G. Oetzel.** 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review, *Animal Feed Science and Technology*; 126:215-236.
37. **Kubista, M., J.M. Andrade, M. Bengtsson, A. Forootan, J. Jonak & K. Lind.** 2006. The realtime polymerase chain reaction. *Mol Aspects Med*; 27:95-125.
38. **Kuroki, M, M. Ohta, Y. Ikemori, F. C. Icatlo Jr., C. Kobayashi, H. Yokoyama, & Y. Kodama.** 1997. Field evaluations of chicken egg yolk immunoglobulins specific for bovine rotavirus in neonatal calves. *Archives of Virology.* 142:843-851.
39. **Larionov A., A. Krause & W. Miller.** 2005. A standard curve based method for relative real time PCR data processing. *BMC Bioinformatics*; 6:62-78.
40. **Lee, E.N., H.H. Sunwoo, K. Menninen & J.S. Sim.** 2002. Estudios in vitro de anticuerpos de pollo yema de huevo (IgY) contra *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium*. *Poult. Sci.* 81: 632-641.
41. **Li, Y. L., T. A. McAllister, K. A. Beauchemin, M. L. He, J. J. McKinnon & W. Z. Yang.** 2011. Substitution of wheat dried distillers grains with solubles for

barley grain or barley silage in feedlot cattle diets: Intake, digestibility, and ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.* 89:2491-2501.

42. **Littell, R. C., P. R. Henry & C. B. Ammerman.** 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 76:1216-1231.
43. **Loveday, D. M., H. C. Block, P. A. Thacker & J. J. McKinnon.** 2006. Factors affecting the apparent intestinal (small and large) disappearance of dry matter and crude protein from rumen undegradable residues of various feeds determined using the mobile bag technique for cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 86:419-428.
44. **Nagaraja, T. G. & M. M. Chengappa.** 1998. Liver abscesses in feedlot cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 76:287-298.
45. **Nagaraja, T. G.** 2003. Response of the Gut and Microbial Populations to Feedstuffs: The ruminant story. in Proc. 64th Minnesota Nutrition Conference. St. Paul, MN. pp. 64-77.
46. **Nagaraja, T. G. E. C. & Titgemeyer.** 2007. Ruminal acidosis in beef cattle: The current microbiological and nutritional outlook. *J. Dairy Sci.* 90:E17-E38.
47. **Newbold, C. J.** 2007. New products for rumen manipulation. *Br. J. Nutr.* 98:15-16.
48. **Okeke, G. C., J. G. Buchanan-Smith & W. L. Grovum.** 1983. Effects of buffers on ruminal rates of passage and degradation of soybean meal in steers. *J. Anim. Sci.* 56:1393.
49. **Ørskov, E. R., F. D. De b Hovell & F. Mould.** 1980. The use of the nylon bag technique for evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production* 5: 195-213.

- 50. Otero, M. & L. Hidalgo.** 2004. Condensed tannins in temperate forages species: effects on the productivity of ruminants infected with internal parasites (a review). *Livestock Research for Rural Development* 16(2): 18-36.
- 51. Persia, M.E., B.A. Dehority & M.S. Lilburn.** 2002. The effects of enzyme supplementation of corn- and wheat-based diets on nutrient digestion and cecal microbial populations in turkeys. *J. Appl. Poul. Res.* 11: 134-135.
- 52. Pfaffl, M.W.** A new mathematical model for relative quantification in real time RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 2001; 29: 2003-2007.
- 53. Pitt, R. E. & A. N. Pell.** 1997. Modeling ruminal pH fluctuations: Interactions between meal frequency and digestion rate. *J. Dairy Sci.* 80:2429–2441.
- 54. Rogers, J. A., C. L. Davis & J. H. Clark.** 1982. Alteration of rumen fermentation, milk fat synthesis, and nutrient utilization with mineral salts in dairy cows. *J. Dairy Sci.*; 65:577.
- 55. Russell, J. B., W. G. Bottje & M. A. Cotta.** 1981. Degradation of protein by mixed cultures of rumen bacteria: Identification of *Streptococcus bovis* as an actively proteolytic rumen bacterium. *J. Anim. Sci.* 53:242-252.
- 56. Russell, J. B. & H. J. Strobel.** 1989. Effect of ionophores on ruminal fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:1–6.
- 57. Russell, J. B. & J. L. Rychlik.** 2001. Factors that alter rumen microbial ecology. *Science* 292:1119-1122.
- 58. SAS Institute Inc.** 2004. SAS On line Doc* 9.1.3. Cary, NC: SAS Institute. Inc.
- 59. Shu, Q., H.S. Gill, D.W. Hennessy, R.A. Leng, S.H. Bird & J.B. Rowe.** 1999. La inmunización contra la acidosis láctica en el ganado. *Res. Vet. Sci.* 67: 65-71.

- 60. Shu, Q., H. S. Gill, R. A. Leng, and J. B. Rowe.** 2000. Immunization with a *Streptococcus bovis* vaccine administered by different routes against lactic acidosis in sheep. *Vet. J.* 159:262-269.
- 61. Silanikove, N.** 2000. The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments *Small Ruminant Research.* 35: 181–193.
- 62. Slyter, L. L.** 1976. Influence of acidosis on rumen function. *J. Anim. Sci.* 43:910-929.
- 63. Stewart, C. S.** 1977. Factors affecting the cellulolytic activity of tureen contents. *Appl. Environ. Microbiol.* 33:497.
- 64. Sunwoo, H. H., E. N. Lee, K. Menninen, M. R. Suresh & J. S. Sim.** 2002. Growth inhibitory effect of chicken egg yolk antibody (IgY) on *Escherichia coli* O157:H7. *J. Food Sci.* 67:486-1494.
- 65. Van Soest, P.J, J.B. Robertson & B.A. Lewis.** 1991. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber and non-starch polysaccharids in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sc.*74:3583-3597.
- 66. Vaithyanathan, S., J.P. Mishra, Q. Sheikh & R. Kumar.** 2001. Salivary glands tannins bindin protein of sheepand goat. *Indian Journal Animal Science.* 71: 11-31-1134.
- 67. Vanzant, E. S., R. C. Cochran & E. C. Titgemeyer.** 1998. Standardization of in situ techniques for ruminal feedstuff evaluation. *J. Anim. Sci.* 76:2717-2729.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla IV.1. Ingredientes y composición química de PAP-MV

Ítems	Datos
Ingredientes	Huevo seco pasterizado, aceite de soja, cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato de potasio, ácido cítrico, sorbato de potasio, fosfato mono y disódico.
PB mínimo (%)	35
Grasa mínimo (%)	30
Ceniza mínimo (%)	6
Humedad máxima (%)	5

Tabla IV.2. Primers utilizados en la técnica de PCR-TR.

Bacteria	Secuencia Primer (5'-3')	Product Tm /size	Referencia
Streptococcus bovis	Fw: ATGTTAGATGCTTGAAAGGAGCAA Rv: CGCCTTGGTGAGCCGTTA	60°C/175 bp	Klieve et al. (2003)

Tabla IV.3. Protocolo de ciclado de PCR en tiempo real.

Ciclo 1 (1X)	Ciclo 2 (45X)		Ciclo 3 (1X)	Ciclo 4 (66X)
Paso 1	Paso 1	Paso 2	Paso 3	Paso 1
94°C - 5'	94°C - 30''	52°C - 1'	72°C - 1' 30''	72°C -.7'
				0,2°C cada 30'' hasta 96°C

Tabla IV.4. Ingredientes de la premezcla para cada reacción de PCR en tiempo real.

Ítems	Cantidad
SYBR Green	12,5 μ l
Primer Fw	1 μ l + Molde de ADN = 3 μ l
Primer Rv	1 μ l
MgCl₂	1,5 μ l
Agua destilada	6 μ l

Tabla IV.5. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos lineales, cuadráticos, cúbicos y análisis de comparación de medias en la degradabilidad *in-situ* de la materia seca y de las fracciones FDN y FDA del heno de alfalfa, utilizando maíz molido como suplemento energético, para las distintas dosis de PAP-MV.

Ítem	Dietas				EE	Contrastes			P-valor
	P0	P1	P2	P3		L	Q	C	
DMSF24	54,00 ^a	58,25 ^a	53,35 ^a	60,93 ^a	4,763	0,464	0,733	0,325	0,641
DMSF48	61,69 ^a	63,00 ^a	54,81 ^a	65,12 ^a	4,003	0,907	0,278	0,138	0,329
DFDN24	38,42 ^a	48,42 ^a	36,73 ^a	48,11 ^a	4,193	0,277	0,941	0,090	0,196
DFDN48	46,48 ^{ab}	50,50 ^{ac}	38,48 ^b	59,32 ^c	4,103	0,223	0,063	0,038	0,032
DFDA24	36,88 ^a	45,15 ^b	36,56 ^a	48,06 ^b	3,476	0,190	0,658	0,015	0,044
DFDA48	39,65 ^a	46,94 ^{ab}	38,25 ^a	58,97 ^b	5,221	0,175	0,048	0,122	0,043

Lab. de Bioquímica y Fitoquímica. Fac. Cs Agrarias y Ftale. UNLP. Lab. de Nutrición animal. Fac. Cs Veterinarias. UNLP.

DMSF24: degradabilidad *in-situ* de la materia seca del heno de alfalfa a las 24 h de incubación.

DMSF48: degradabilidad *in-situ* de la materia seca del heno de alfalfa a las 48 h de incubación.

DFDN24: degradabilidad *in-situ* del FDN del heno de alfalfa a las 24 h de incubación.

DFDN48: degradabilidad *in-situ* del FDN del heno de alfalfa a las 48 h de incubación.

DFDA24: degradabilidad *in-situ* del FDA del heno de alfalfa a las 24 h de incubación.

DFDA48: degradabilidad *in-situ* del FDA del heno de alfalfa a las 48 h de incubación.

P0: 0 gramos de PAP-MV/cabra/día.

P1: 1 gramo de PAP-MV/cabra/día.

P2: 2 gramos de PAP-MV/cabra/día.

P3: 3 gramos de PAP-MV/cabra/día.

EE: Error estándar.

L: Valor de probabilidad asociado a un efecto lineal del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

Q: Valor de probabilidad asociado a un efecto cuadrático del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

C: Valor de probabilidad asociado a un efecto cúbico del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

P valor: Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla IV.6. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos lineales, cuadráticos, cúbicos y análisis de comparación de medias del pH ruminal, para las distintas dosis de PAP- MV.

Ítem	Dietas				EE	Contrastes			P-valor
	P0	P1	P2	P3		L	Q	C	
pH <5,8 h/d	0,90 ^a	0,59 ^a	0,83 ^a	0,67 ^a	0,271	0,743	0,744	0,436	0,843
pH <6 h/d	2,19 ^a	1,38 ^b	1,67 ^b	0,76 ^c	0,177	0,027	0,889	0,199	0,097
pH promedio	6,14 ^a	6,27 ^a	6,27 ^a	6,35 ^a	0,170	0,299	0,636	0,951	0,709
Hr pH < 6	6,95 ^a	4,02 ^a	4,64 ^a	4,00 ^a	0,985	0,087	0,223	0,272	0,159

pH <5,8 (h/d): pH expresado como superficie bajo la curva de un pH umbral de 5,8.

pH <6 (h/d): pH expresado como superficie bajo la curva de un pH umbral de 6.

pH Prom: pH promedio durante las 24 h de medición, según tratamiento.

Hr pH < 6: Tiempo en horas con pH por debajo del valor 6.

P0: 0 gramos de PAP-M/cabra/día.

P1: 1 gramo de PAP-MV/cabra/día.

P2: 2 gramos de PAP-MV/cabra/día.

P3: 3 gramos de PAP-MV/cabra/día.

EE: Error estándar.

L: Valor de probabilidad asociado a un efecto lineal del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

Q: Valor de probabilidad asociado a un efecto cuadrático del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

C: Valor de probabilidad asociado a un efecto cúbico del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

P valor: Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla IV.7. Efecto del tiempo (h) sobre el pH ruminal durante 12 h post alimentación utilizando PAP-MV en las dietas.

Ítem							EE
Horas	0	2	4	6	8	12	
Nº cabras	4	4	4	4	4	4	
pH¹	7,04 ^a	6,38 ^b	6,19 ^c	6,06 ^d	5,99 ^d	5,97 ^d	0,073

pH: pH ruminal.

1: Efecto del tiempo (h) sobre el pH ruminal ($p < 0,0001$).

Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla IV.8. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos lineales, cuadráticos, cúbicos y análisis de comparación de medias sobre los AGV y N-NH₃, para las distintas dosis de PAP- MV.

Ítem	Dietas				EE	Contrastes			P-valor
	P0	P1	P2	P3		L	Q	C	
C2	55,83 ^a	52,64 ^a	59,46 ^a	63,04 ^a	8,062	0,406	0,649	0,701	0,787
C3	24,33 ^a	20,56 ^a	22,61 ^a	24,57 ^a	6,640	0,902	0,565	0,794	0,922
C4	8,61 ^a	9,39 ^a	10,54 ^a	10,65 ^a	3,013	0,379	0,853	0,867	0,806
C4iso	10,03 ^a	5,87 ^a	8,71 ^a	8,84 ^a	2,342	0,918	0,181	0,193	0,332
C5	1,24 ^a	1,21 ^a	1,28 ^a	1,44 ^a	0,461	0,625	0,763	0,998	0,952
C5iso	1,02 ^a	0,97 ^a	1,07 ^a	1,28 ^a	0,384	0,529	0,663	0,969	0,897
C2/C3	2,95 ^a	3,15 ^a	2,64 ^a	3,23 ^a	0,468	0,881	0,688	0,399	0,793
AGVt	101,06 ^a	90,64 ^a	103,67 ^a	109,82 ^a	24,467	0,506	0,552	0,639	0,801
N-NH ₃	15,26 ^a	11,84 ^a	18,21 ^a	18,18 ^a	3,249	0,285	0,577	0,249	0,435

C2: ácido acético (nM/l).

C3: ácido propiónico (nM/l).

C4: ácido butírico (nM/l).

C4iso: ácido isobutírico (nM/l).

C5: ácido valérico (nM/l).

C5iso: ácido isovalérico (nM/l).

C2/C3: ácido acético/ácido propiónico (nM/l).

AGVt: ácido grasos totales (nM/l).

N-NH₃: nitrógeno amoniacal (mg/100 ml)

P0: 0 gramos de PAP-M/cabra/día.

P1: 1 gramo de PAP-MV/cabra/día.

P2: 2 gramos de PAP-MV/cabra/día.

P3: 3 gramos de PAP-MV/cabra/día.

EE: Error estándar.

L: Valor de probabilidad asociado a un efecto lineal del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

Q: Valor de probabilidad asociado a un efecto cuadrático del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

C: Valor de probabilidad asociado a un efecto cúbico del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

P valor: Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla IV.9. Efecto del tiempo (h) sobre el C2, C3, C4, C2/C3 y AGVt, durante 6 h post alimentación utilizando PAP-MV en las dietas.

Ítem	Hora		
	0	6	EE
C2 ¹	46,65 ^a	63,11 ^b	5,363
C3 ¹	11,43 ^a	21,99 ^b	2,424
C4 ¹	10,06 ^a	11,03 ^a	1,559
C2/C3 ¹	4,50 ^a	3,16 ^a	0,285
AGVt ¹	67,72 ^a	96,14 ^b	8,451

1: Efecto del tiempo (h) sobre C2 (p<0,000).

1: Efecto del tiempo (h) sobre C3 (p<0,000).

1: Efecto del tiempo (h) sobre C4 (p> 0,05).

1: Efecto del tiempo (h) sobre el C2/C3 (p<0,000).

1: Efecto del tiempo (h) sobre el AGVt (p<0,000).

C2: ácido acético (nM/l).

C3: ácido propiónico (nM/l).

C4: ácido butírico (nM/l)

C2/C3: ácido acético/ácido propiónico (nM/l)

AGVt: ácido grasos totales (nM/l).

EE: Error estándar.

Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla IV.10. Efecto de las dosis de PAP-MV sobre el ciclo de amplificación en que una fluorescencia es detectada y correlacionada con la cantidad de ADN de *S. bovis*.

Ítem	Dietas				EE	Contrastes			P-valor
	P0	P1	P2	P3		L	Q	C	
Ct	25,04 ^a	26,01 ^a	27,61 ^a	28 ^a	1,175	0,066	0,801	0,737	0,283

Ct: Ciclo de amplificación de fluorescencia detectada y correlacionada con la cantidad de ADN de *S. bovis*.

P0: 0 gramos de PAP-M/cabra/día.

P1: 1 gramo de PAP-MV/cabra/día.

P2: 2 gramos de PAP-MV/cabra/día.

P3: 3 gramos de PAP-MV/cabra/día.

EE: Error estándar.

L: Valor de probabilidad asociado a un efecto lineal del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

Q: Valor de probabilidad asociado a un efecto cuadrático del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

C: Valor de probabilidad asociado a un efecto cúbico del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

P valor: Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla IV.11. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos lineales, cuadráticos y cúbicos y análisis de comparación de medias de las distintas dosis de PAP-MV sobre el CMST/PV, CTMSD, CMSF, CTFDN, CTFDA, CTBP y F/C.

Ítem	Dietas				EE	Contrastes			P-valor
	P0	P1	P2	P3		L	Q	C	
CMST/PV (%)	2,18 ^a	2,15 ^a	2,21 ^a	2,19 ^a	0,147	0,833	0,983	0,790	0,991
CMSTD (Kg/día)	0,797 ^a	0,707 ^a	0,861 ^a	0,804 ^a	0,065	0,555	0,801	0,138	0,434
CMSF Kg/día	0,521 ^a	0,514 ^a	0,567 ^a	0,559 ^a	0,068	0,641	0,999	0,746	0,956
CTFDN (Kg/día)	0,377 ^a	0,339 ^a	0,379 ^a	0,381 ^a	0,048	0,791	0,636	0,546	0,874
CTFDA (Kg/día)	0,249 ^a	0,229 ^a	0,266 ^a	0,262 ^a	0,036	0,614	0,819	0,494	0,823
CTPB (kg/día)	0,150 ^a	0,135 ^a	0,151 ^a	0,146 ^a	0,016	0,949	0,736	0,417	0,848
F/C	53/47 ^a	55/45 ^a	55/45 ^a	54/46 ^a	4,532	0,834	0,818	0,954	0,994

CMST/PV: materia seca total consumida en porcentaje del PV.

CMSTD: consumo de materia seca total digestible expresado en Kg/día.

CMSF: consumo de materia seca de forraje expresado en Kg/día.

CTFDN: consumo total de fibra detergente neutro expresado en Kg/día.

CTFDA: consumo total de fibra detergente ácido expresado en Kg/día.

CTPB: consumo total de proteína bruta expresado en Kg/día.

F/C: Relación forraje concentrado consumido expresado en porcentaje, según tratamiento.

P0: 0 gramos de PAP-M/cabra/día.

P1: 1 gramo de PAP-MV/cabra/día.

P2: 2 gramos de PAP-MV/cabra/día.

P3: 3 gramos de PAP-MV/cabra/día.

EE: Error estándar.

L: Valor de probabilidad asociado a un efecto lineal del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

Q: Valor de probabilidad asociado a un efecto cuadrático del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

C: Valor de probabilidad asociado a un efecto cúbico del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

P valor: Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla IV.12. Contrastes polinomiales ortogonales para determinar efectos lineales, cuadráticos, cúbicos y análisis de comparación de medias de la distintas dosis de PAP-MV sobre la DTAIVMS, DTAIVMO, DTAIVALM, DTAIVFDA, DTAIVFDN, y DTAIVPB.

Ítem	Dietas				EE	Contrastes			P-valor
	P0	P1	P2	P3		L	Q	C	
DTAIVMS (%)	77,84 ^a	82,88 ^a	80,94 ^a	82,04 ^a	1,687	0,184	0,255	0,192	0,236
DTAIVMO (%)	80,51 ^a	83,83 ^a	83,37 ^a	83,53 ^a	1,235	0,141	0,221	0,441	0,241
DTAIVALM (%)	91,55 ^a	90,62 ^a	91,63 ^a	91,60 ^a	0,398	0,534	0,289	0,131	0,284
DTAIVFDA (%)	59,76 ^a	63,78 ^a	65,81 ^a	66,55 ^a	2,418	0,063	0,511	0,948	0,272
DTAIVFDN (%)	66,38 ^a	72,62 ^a	72,59 ^a	74,02 ^a	2,714	0,083	0,395	0,535	0,265
DTAIVPB (%)	72,80 ^a	79,98 ^a	81,53 ^a	81,89 ^a	2,705	0,041	0,239	0,722	0,129

Lab. de Bioquímica y Fitoquímica. Fac. Cs Agrarias y Ftals. UNLP. Lab. de Nutrición animal. Fac. Cs Veterinarias. UNLP.

DTAIVMS: digestibilidad de la materia seca total aparente expresado en porcentaje.

DTAIVMO: digestibilidad de la materia orgánica.

DTAIVALM: digestibilidad del almidón.

DTAIVFDA: digestibilidad de la fibra detergente ácida expresado en porcentaje.

DTAIVFDN: digestibilidad de la fibra detergente neutro expresado en porcentaje.

DTAIVPB: digestibilidad de la proteína bruta expresado en porcentaje.

P0: 0 gramos de PAP-M/cabra/día.

P1: 1 gramo de PAP-MV/cabra/día.

P2: 2 gramos de PAP-MV/cabra/día.

P3: 3 gramos de PAP-MV/cabra/día.

EE: Error estándar.

L: Valor de probabilidad asociado a un efecto lineal del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

Q: Valor de probabilidad asociado a un efecto cuadrático del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

C: Valor de probabilidad asociado a un efecto cúbico del nivel de dosis de PAP-MV en un contraste polinomial ortogonal.

P valor: Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Tabla IV.13. Análisis de varianza. Correlación entre la DFDA y el área bajo la curva del pH ruminal < 6.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	469,0	1	469,0	16,71	0,0010
Residuo	421,016	15	28,0678		
Total (Corr.)	890,017	16			

Coefficiente de Correlación = -0,725918
R-cuadrada = 52,6957 %

Tabla IV.14. Análisis de varianza. Correlación entre la DFDN y el área bajo la curva del pH ruminal < 6.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	89,4193	1	89,4193	3,39	0,0855
Residuo	395,746	15	26,3831		
Total (Corr.)	485,165	16			

Coefficiente de Correlación = -0,42931
R-cuadrada = 18,4307%

Tabla IV.15. Análisis de varianza. Correlación entre la DPB y el área bajo la curva del pH ruminal < 6.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	158,744	1	158,744	7,57	0,0148
Residuo	314,394	15	20,9596		
Total (Corr.)	473,138	16			

Coefficiente de Correlación = -0,579234
R-cuadrada = 33,5512%

Figura IV.1. Curva de calibración para las diferentes diluciones de ADN de *S. bovis*.

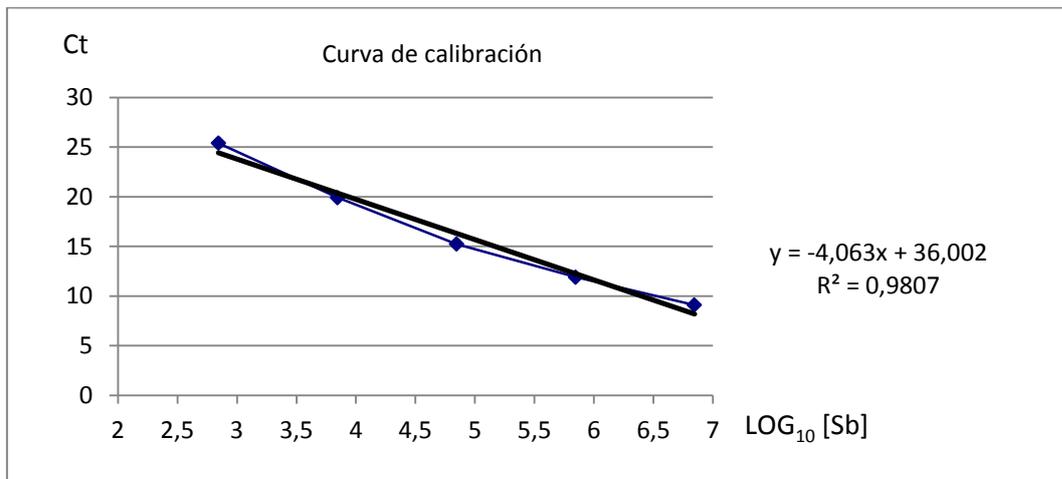
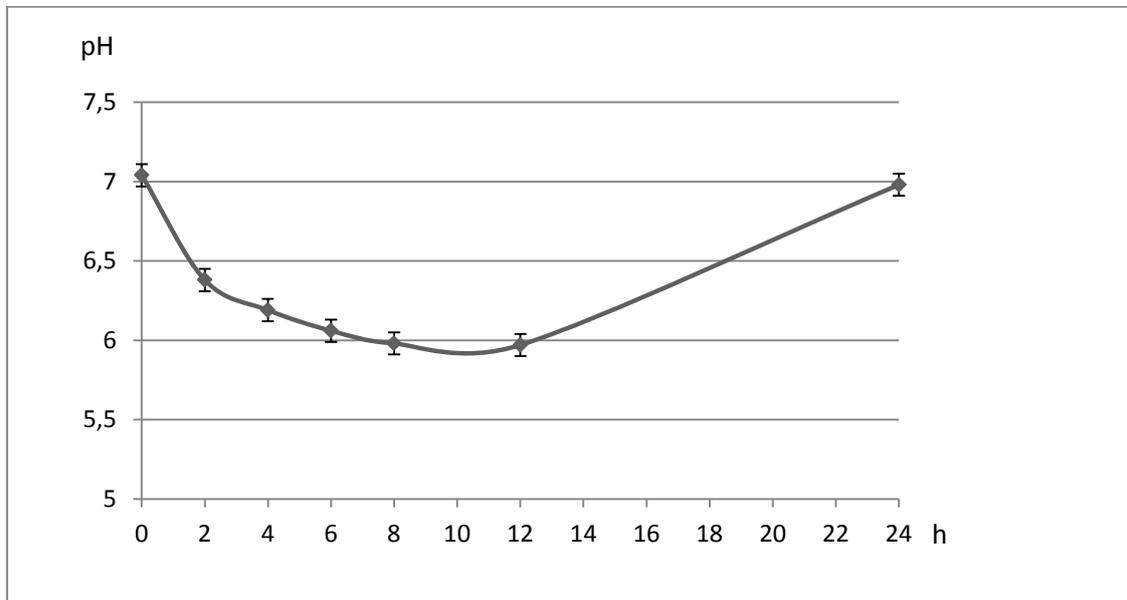
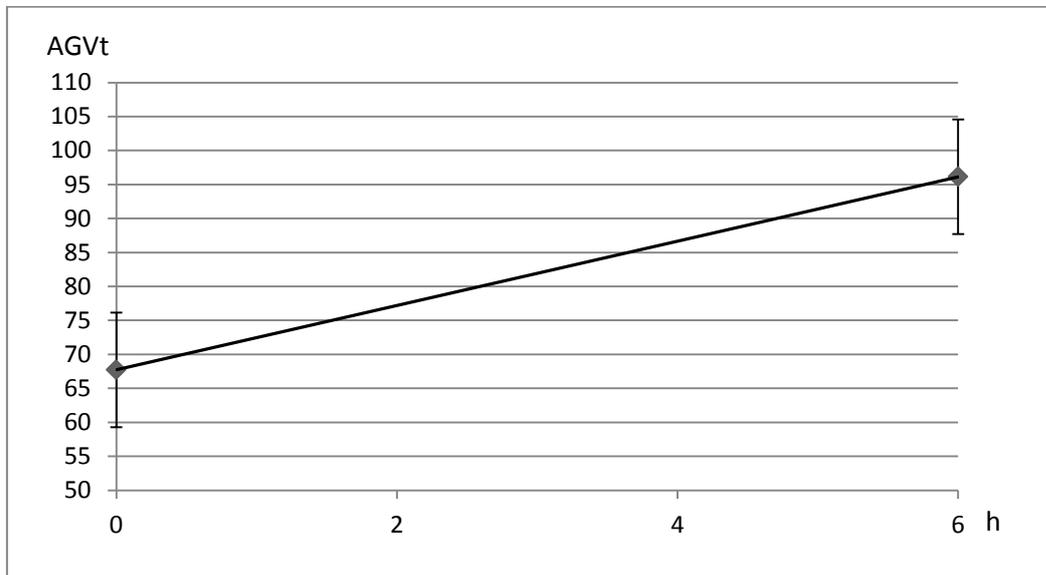


Figura IV.2. Efecto de PAP-MV sobre de pH ruminal durante las 24 h de medición.
Efecto del tratamiento (p=0,789). Interacción hora*tratamiento (p=0,664).



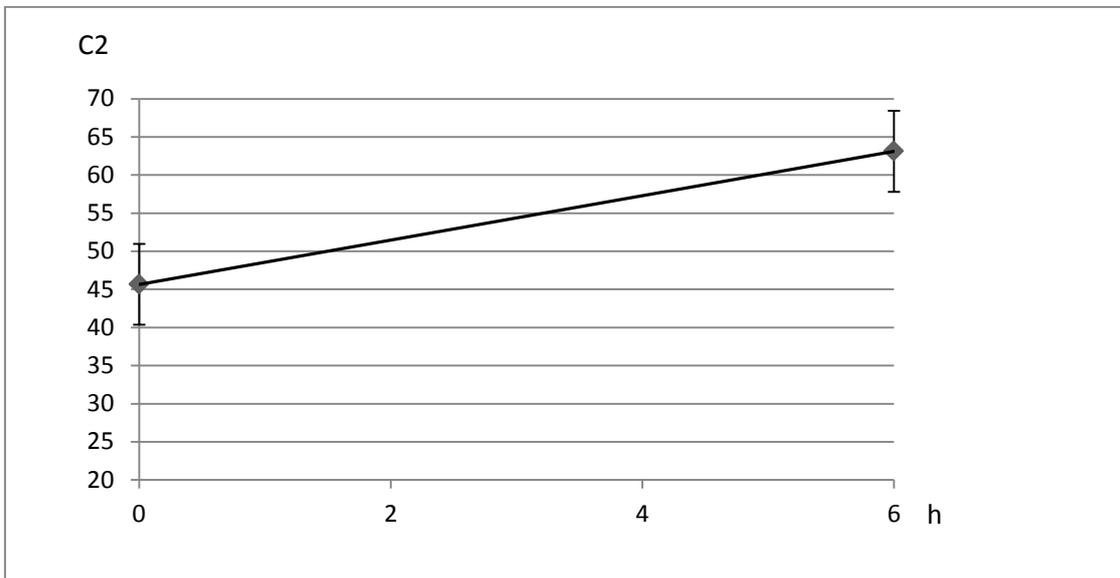
EE: error estándar (0,078)

Figura IV.3. Efecto de PAP-MV sobre los AGVt entre las hora 0 y 6 post alimentación.
Tratamiento (p=0,684). Interacción hora*tratamiento (p=0,201).



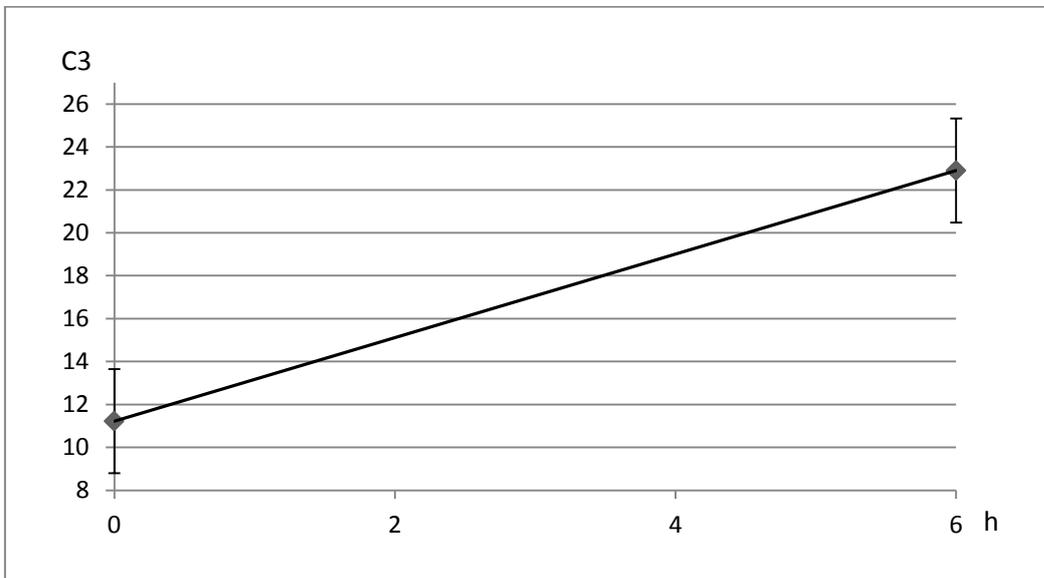
EE: 8,54

Figura IV.4. Efecto de PAP-MV sobre los C2 entre las hora 0 y 6 post alimentación.
Tratamiento (p=0,789). Interacción hora*tratamiento (p=0,664).



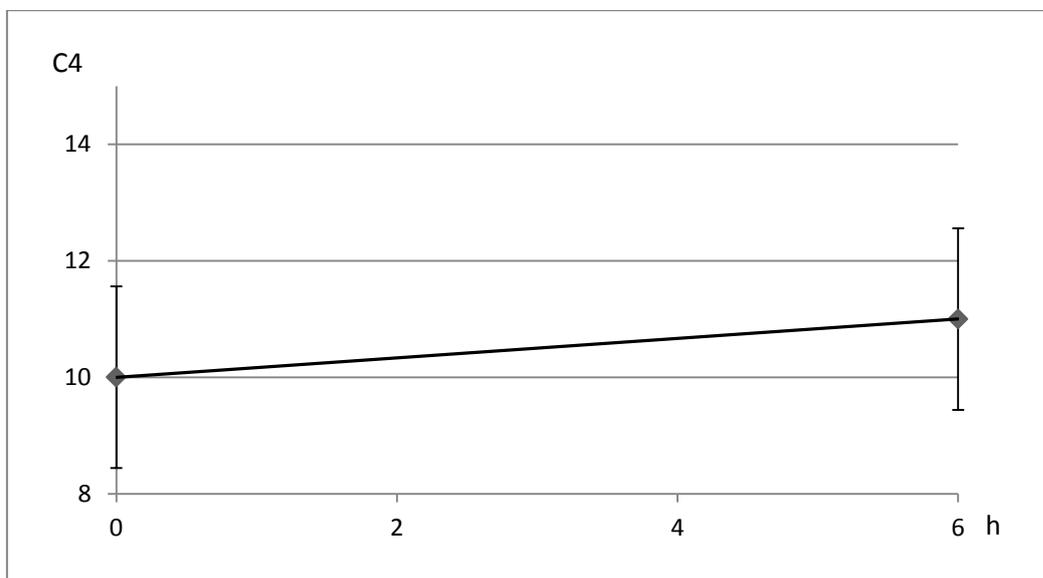
EE: 5,36

Figura IV.5. Efecto de PAP-MV sobre los C3 entre las hora 0 y 6 post alimentación.
Tratamiento (p=0,922). Interacción hora*tratamiento (p=0,357).



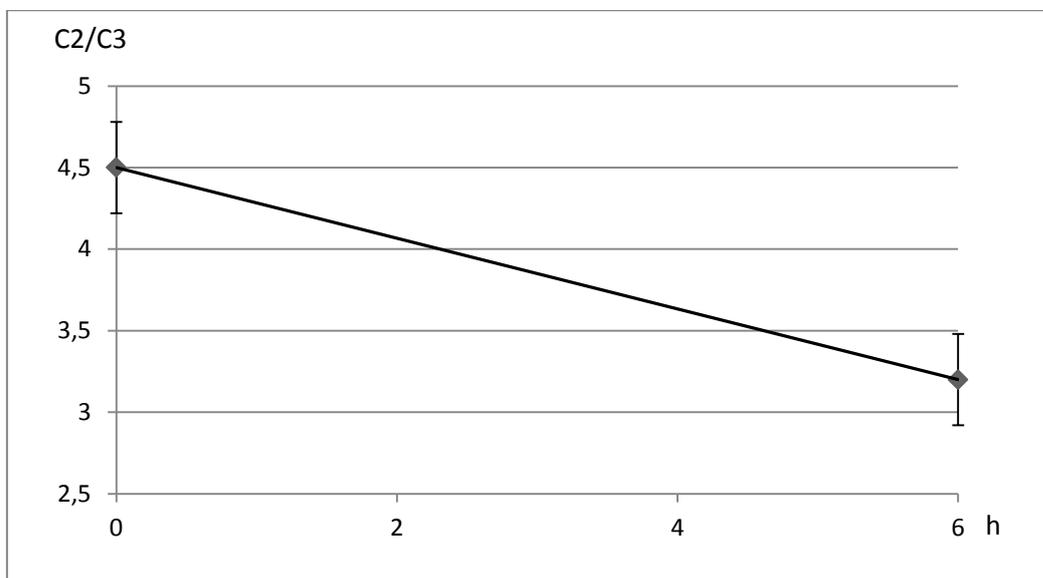
EE: 2,42

Figura IV.6. Efecto de PAP-MV sobre los C4 entre las hora 0 y 6 post alimentación.
Tratamiento (p=0,806). Interacción hora*tratamiento (p=0,406).



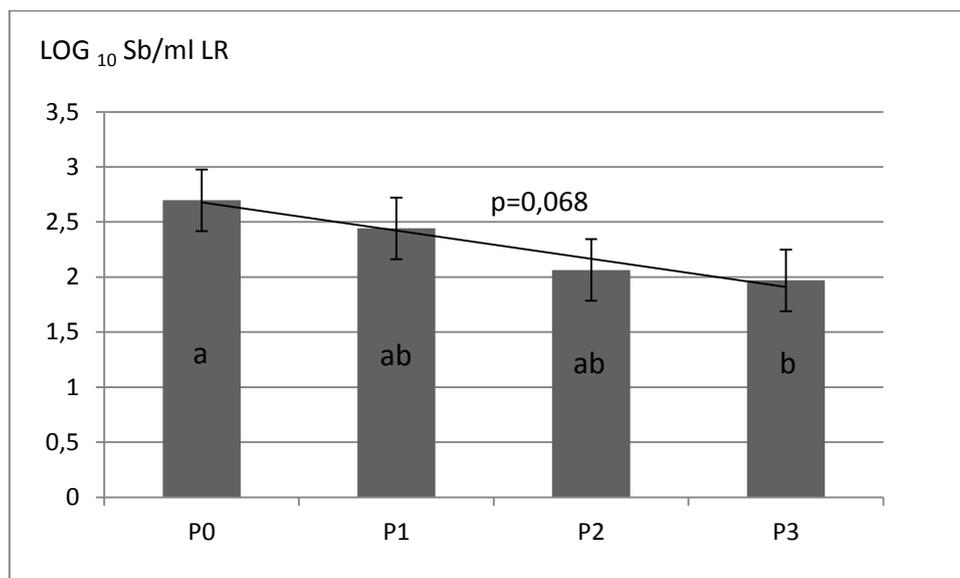
EE: 1,56

Figura IV.7. Efecto de PAP-MV sobre los C2/C3 entre las hora 0 y 6 post alimentación. Tratamiento ($p=0,985$). Interacción hora*tratamiento ($p=0,728$).



EE: 0,28

Figura IV.8. Efecto del tratamiento sobre la cuantificación de *S. bovis*.



LOG₁₀ Sb/ml LR: Logaritmo base 10 de *S. bovis* por ml de líquido ruminal.

P0: 0 gramos de PAP-M/cabra/día.

P1: 1 gramo de PAP-MV/cabra/día.

P2: 2 gramos de PAP-MV/cabra/día.

P3: 3 gramos de PAP-MV/cabra/día.

EE: Error estándar (0,28).

Letras iguales indican diferencias no significativas para el 5 % de probabilidad.

Figura IV.9. Curvas de ciclos de amplificación en que se detectó una fluorescencia.

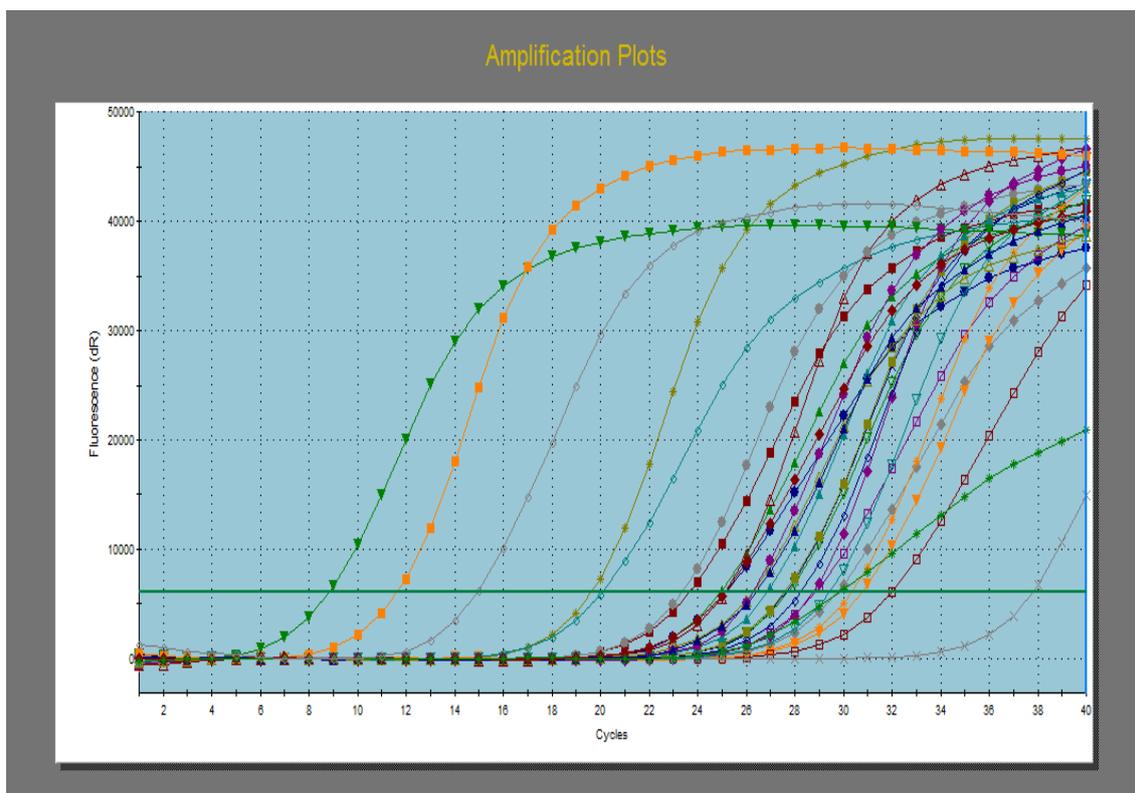


Figura IV.10. Curvas de temperatura de disociación en que fue detectada una fluorescencia.

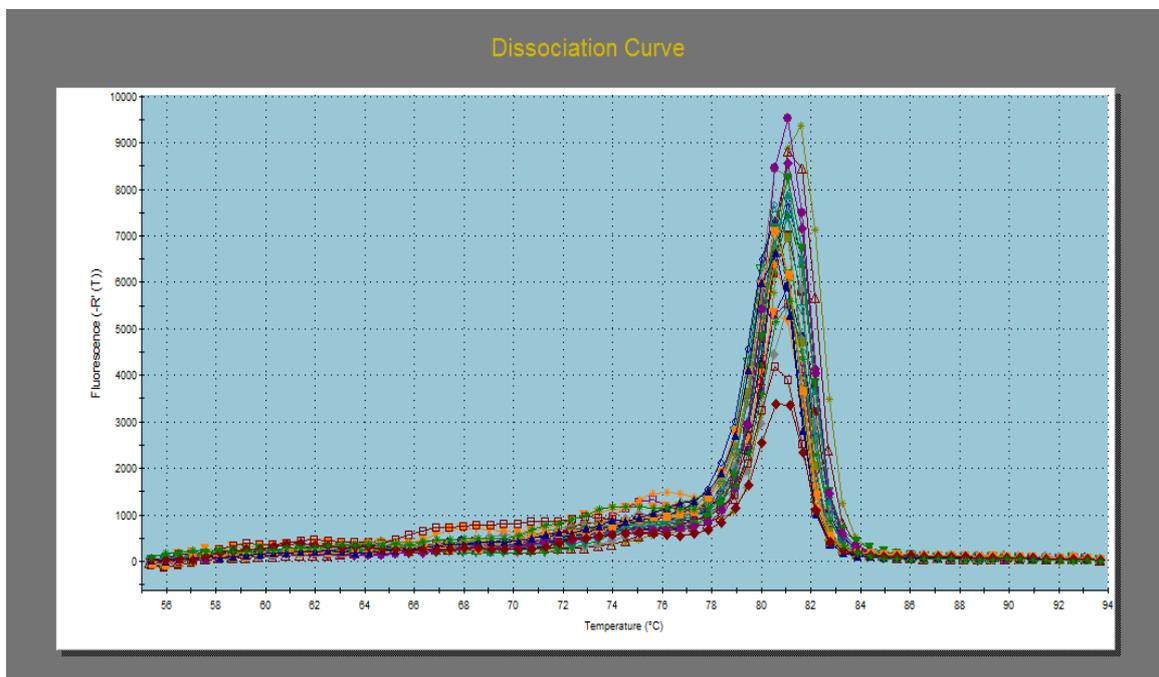
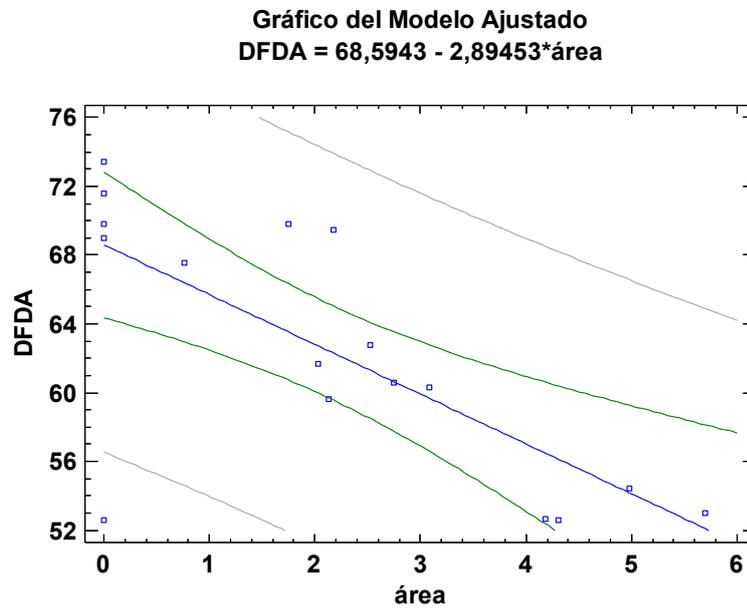


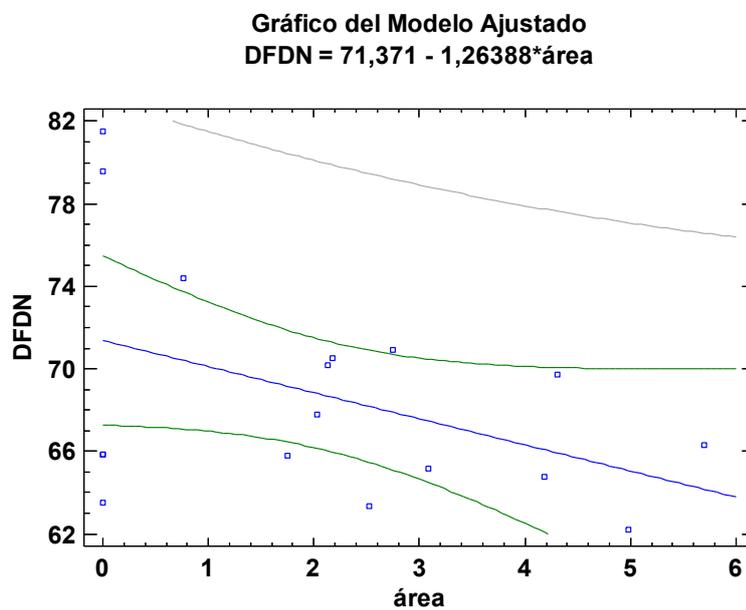
Figura IV.11. Relación entre el pH ruminal expresado como área bajo la curva y la DTAIV de la FDA.



área: área bajo la curva: pH ruminal de una dieta con PAP-MV, expresado como superficie del área bajo la curva de un pH umbral de 6.

DFDA: Digestibilidad de la fracción Fibra Detergente Ácida consumida utilizando PAP-MV en la dieta.

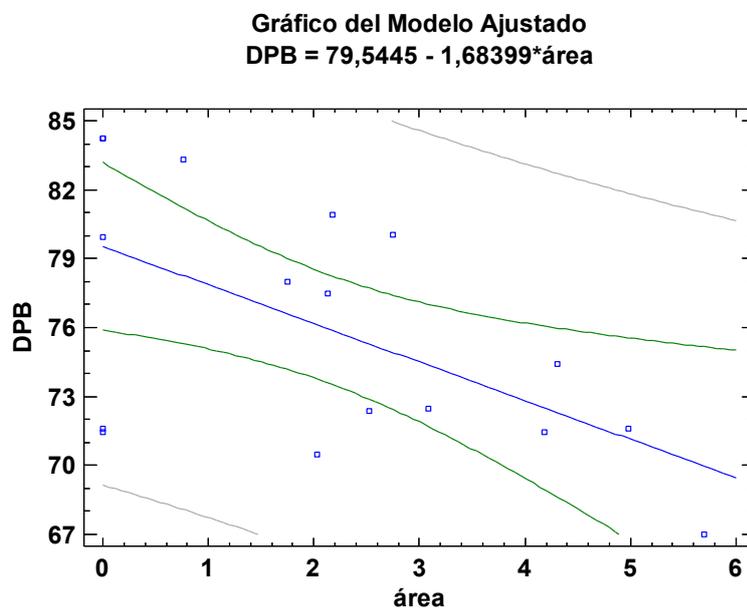
Figura IV.12. Relación entre la DFDN y el pH ruminal expresado como área bajo la curva.



área: área bajo la curva: pH ruminal de una dieta con PAP-MV, expresado como superficie del área bajo la curva de un pH umbral de 6.

DFDN: Digestibilidad de la fracción Fibra Detergente Neutra consumida utilizando PAP-MV en la dieta.

Figura IV.13. Relación entre la DPB y el pH ruminal expresado como área bajo la curva.



área: área bajo la curva: pH ruminal de una dieta con PAP-MV, expresado como superficie del área bajo la curva de un pH umbral de 6.

DPB: Digestibilidad de la Proteína Bruta consumida utilizando PAP-MV en la dieta.

CONSIDERACIONES FINALES

Las cabras pueden adaptarse a una amplia gama de condiciones de alimentación, modificando su conducta alimenticia de acuerdo a la disponibilidad de forrajes o concentrados, siendo más versátiles que otros rumiantes domésticos, pudiéndose adaptar tanto a pasturas pobres como a dietas ricas y balanceadas. Por estas razones pueden ser utilizadas tanto en sistemas extensivos como intensivos, donde usualmente en este último se emplean razas especializadas y con altos niveles de suplementación. Por todas estas características, la formulación de dietas para caprinos no debiera ser una extrapolación directa de las recomendaciones nutricionales para el ganado bovino u ovino.

Respecto a los experimentos realizados, se puede mencionar que, el incremento del nivel de inclusión de grano de maíz en la dieta, aumentó la digestibilidad total de la materia seca consumida ante la mayor proporción de la fracción más digestible que aportó dicho concentrado, en detrimento de la digestibilidad de las fracciones fibra.

En relación al grado de procesamiento del concentrado, en el experimento que incluyó grano de maíz molido, la incidencia en la disminución de la digestibilidad de la fibra fue mayor, probablemente esto se deba al aumento de la velocidad de hidrólisis del almidón, al haber quedado más expuesto el endosperma a la colonización bacteriana.

La disponibilidad *ad libitum* del heno de alfalfa permitió que el ajuste de la relación F/C sea producto del comportamiento ingestivo propio de la cabra, verificándose un proceso de sustitución.

Si bien los diferentes niveles de suplementación con grano de maíz influyeron sobre la digestibilidad de la fibra a través de su efecto sobre el área bajo la curva del pH ruminal, no fue suficiente como para manifestar sintomatología clínica.

El tratamiento con grano de maíz molido al 1% del PV y heno de alfalfa *ad libitum*, provocó efectos asociativos negativos entre el almidón y la fibra, debido a un descenso de pH ruminal ya por debajo de 6 y a una todavía alta proporción de fibra en la dieta total consumida. No obstante este efecto sobre la degradabilidad ruminal de la fibra, cantidades crecientes de almidón mejoraron la degradabilidad de la materia seca

del heno en su conjunto. Esto podría atribuirse a una mayor sincronía entre los aportes energéticos y nitrogenados.

El uso y ensayo de PAP-MV como moderador de la actividad microbiana ruminal, ha contribuido a poner de manifiesto la necesidad de una mayor y profunda comprensión de ambiente ruminal caprino como un ecosistema complejo. Es en ese contexto de mayor entendimiento en el que podrá establecerse el verdadero potencial de este recurso para constituirse en una alternativa futura al uso de antibióticos tradicionales.

TRABAJOS PUBLICADOS