

# EFFECTOS DE LA RELACION GRAMINEAS- LEGUMINOSAS SOBRE LA DEGRADABILIDAD RUMINAL DE LAS MATERIAS NITROGENADAS DE HENOS DE PRADERAS TEMPORALES

MARIA R. ALVIR y J. GONZALEZ

Cátedra de Alimentación Animal. E.T.S.I. Agrónomos Universidad  
Politécnica. 28040 Madrid.

## RESUMEN:

*Sobre 4 corderos adultos fistulizados en rumen se ha estudiado, mediante métodos in sacco, la variación de la degradabilidad ruminal de la proteína bruta entre 6 henos obtenidos de 2 cortes (2º y 4º) de 3 praderas polifitas temporales con una relación gramíneas: leguminosas decreciente.*

El nitrógeno total de los henos se fraccionó, a partir de sus cinéticas de degradación, en sus componentes soluble, potencialmente degradable por los microorganismos e indegradable en el rumen, determinándose, así mismo, la duración del tiempo de latencia previo al inicio de la degradación de la segunda fracción indicada y la velocidad de degradación de ésta. La variación observada en estos parámetros se discutió en base a la composición botánica y química de los henos.

Los valores medios de degradabilidad de la proteína bruta aumentaron ( $P < 0,05$ ) del 60,9 al 71,6% con la proporción de leguminosas en la pradera, aumentando, así mismo, aparentemente del 65,1 al 68,2% entre el 2º y 4º corte. Los factores que ejercieron un mayor efecto sobre estos incrementos fueron: el aumento del contenido en materias nitrogenadas solubles del heno, la reducción del tiempo de lactancia y la elevación de las velocidades de degradación.

## PROTEINA, DEGRADACION RUMINAL, HEMOS DE PRADERA

## INTRODUCCION

Los estudios sobre la degradación ruminal de las materias nitrogenadas de los alimentos, necesarios para la aplicación de los nuevos sistemas de racionamiento, basados en la determinación de la cantidad de aminoácidos absorbidos en el intestino delgado (INRA, 1978; ARC, 1980, 1984; MADSEN, 1985), se han realizado especialmente con alimentos concentrados, siendo los conocimientos actuales sobre la degradabilidad ruminal de las materias nitrogenadas de los forrajes muy insuficientes.

La degradación ruminal de este tipo de alimentos puede estar afectada por numerosos factores, tales como la especie vegetal, el abonado, el estado vegetativo de la planta en el momento del corte y los tratamientos de conservación (deshidratación, henificado, ensilado), al condicionar todos ellos bien la distribución de las diferentes fracciones nitrogenadas del alimento o el grado de accesibilidad de los enzimas microbianos a las proteínas tisulares.

Entre los posibles métodos de determinación de la degradabilidad ruminal de la proteína, el más ampliamente utilizado es el empleo de técnicas "in sacco" junto con la medida de la velocidad de tránsito del alimento a través del rumen (ORSKOV y Mc DONALD, 1979), dadas sus características de relativa sencillez y precisión en relación con otros métodos. De otra parte esta metodología se adapta bien al estudio de los efectos de los posibles factores de variación de la degradabilidad en el rumen.

En el presente trabajo se ha estudiado la variación de la degradabilidad ruminal de la proteína bruta de henos de pradera temporal obtenidos de 2 cortes diferentes de 3 praderas con distinta relación gramíneas: leguminosas.

## MATERIAL Y METODOS

*Alimentos.* Se han utilizado henos provenientes de 3 praderas temporales (P1, P2, P3), con diferentes relaciones gramíneas-leguminosas, situadas en la finca "La Poveda" (Arganza-Madrid). Las praderas fueron sembradas inicialmente con la misma proporción de gramíneas (*Festuca arundinacea* y *Dactylis glomerata*) y de leguminosas (*Medicago sativa* y *Trifolium repens*), habiéndose alterado posteriormente su composición botánica mediante su manejo durante el año de implantación. Las muestras utilizadas en este estudio se tomaron en el 2º año de crecimiento, presentando las praderas las siguientes características:

P1: Dominancia de gramíneas frente a leguminosas.

P2: Equilibrio entre gramíneas y leguminosas, dentro de estas últimas el trébol fué prácticamente inexistente.

P3: Predominio de leguminosas frente a gramíneas.

Este trabajo ha sido financiado por la CAICYT.

Para cada pradera se tomaron muestras en dos cortes diferentes (2° C y 4° C) ambos en estado vegetativo de desarrollo, preparándose los correspondientes henos mediante desecación al sol, sobre el suelo, con buen tiempo. Su composición química se expone en la tabla 1, junto con la solubilidad de su proteína en solución tampón.

*Degradación proteica ruminal.* La degradación ruminal de la proteína se determinó mediante la incubación en el rumen de muestras de alimento, contenidos en bolsas de nylon, de acuerdo a la técnica propuesta por ORSKOV y Mc DONALD (1979).

Las bolsas, fabricadas en tejido de nylon F100\* con un tamaño de poro de 1200 m<sup>2</sup> contenían 15 mg de MS/cm<sup>2</sup> de área, de los distintos henos a estudiar, molidos a tamaño de 2 mm. Las bolsas fueron incubadas en el rumen de 4 corderos adultos alimentados "ad libitum" con heno de alfalfa suministrado dos veces al día (8,30 a.m. y 3 p.m.), siendo introducidas una hora después de ser ofrecida la comida de la mañana y retiradas tras tiempos de incubación de 1, 3, 6, 9, 15, 24 y 48 horas.

Trás la incubación, las bolsas fueron inmediatamente lavadas con agua, secadas en estufa a 60 °C durante 48 horas y pesadas, siendo los residuos resultantes homogeneizados y analizados para N-Kjeldahl, expresándose la cantidad de nitrógeno residual en las bolsas como porcentaje del nitrógeno inicial de la muestra.

La evolución del nitrógeno residual (Y) en función del tiempo (t) se modelizó, mediante regresión no lineal, para el conjunto de los corderos, mediante la ecuación:

$$Y(t) = A + B \text{ para } t < t_0$$

$$Y(t) = A + B' \cdot e^{-Ct} \text{ para } t > t_0$$

equivalente a la propuesta por Mc DONALD (1981) para la evolución del nitrógeno degradable.

Este modelo, asume la existencia de un tiempo de retraso ( $t_0$ ) antes de que las acciones degradativas de los microorganismos resulten aparentes y permite la partición de las materias nitrogenadas del alimento en tres fracciones en función de su posible utilización ruminal. Así, el valor "A" representa la fracción de nitrógeno indegradable en el rumen, el valor "B" la fracción de nitrógeno no solubilizado y potencialmente degradable por

---

\* Triplette & Renaud.- 39 rue Jean-Jacques - Rousseau - 75038 París Cedex 01.

los microorganismos a una velocidad horaria de "C" y la diferencia  $100 - (A + B)$  representa el nitrógeno rápidamente soluble, el cual se acepta que es degradable íntegramente en el rumen. En este estudio, el valor  $(A + B)$  se asumió que era igual al nitrógeno residual después de 1 hora de incubación, determinándose el valor  $t_0$  mediante la resolución de la igualdad de las dos ecuaciones anteriormente expuestas.

La degradabilidad efectiva (D) se estimó de acuerdo a Mc DONALD (1981), mediante la expresión:

$$D = 100 - (A + B) + \frac{B \cdot C - K \cdot t_0}{C + K}$$

siendo K la velocidad de salida del alimento del rumen.

El valor de K empleado para este cálculo fué de 4,85 (%/h). Este valor se obtuvo a partir de la media de las velocidades de tránsito a través del rumen de 4 henos de alfalfa de diferente composición química, determinadas mediante marcaje con cromo, según la técnica de UDEN et al (1980), en un trabajo simultáneo al aquí expuesto y realizado con los mismos corderos y ración (ALVIR, datos no publicados).

*Análisis químicos.* Los análisis de principios inmediatos de los henos se realizaron según los métodos del A.O.A.C. (1970), determinándose la fibra neutro detergente (F.N.D.), fibra ácido detergente (F.A.D.) y lignina ácido detergente (L.A.D.) de acuerdo a ROBERTSON y VAN SOEST (1981).

El contenido de los henos en nitrógeno no proteico (N.N.P.) se analizó por el método propuesto por Unilever Research Laboratory, mientras que la solubilidad de las materias nitrogenadas se determinó mediante incubación en solución de Mc DOUGALL (1948) durante un tiempo de 2 horas, de acuerdo a la metodología descrita por ALVIR et al. (1987).

## RESULTADOS Y DISCUSION

En los resultados de composición química (cuadro 1) se observa que el heno proveniente de la pradera con predominio de gramíneas (P1) presentaba, como era previsible, un mayor contenido en paredes celulares (F.N.D.) junto con menores contenidos en P.B. y L.A.D. que la muestra P3, proveniente de una pradera dominada por leguminosas. La muestra P2 presentó unos porcentajes de F.N.D. y P.B. intermedios a los anteriores, pero, sin embargo, su contenido en L.A.D. fué superior, lo que podría, quizás, atribuirse al hecho de que las leguminosas de esta pradera estuviesen básicamente representadas por la alfalfa. El número de corte influenció también la composición química de los henos, debiendo corresponder el 4º corte a un estado vegetativo más temprano que el 2º corte, como se desprende de sus contenidos superiores en proteína e inferiores en pared celular, si bien, ésta última presentó una proporción relativamente más elevada en carbohidratos menos digestibles (F.A.D.) estando además éstos más lignificados.

La composición botánica de las praderas influyó también las distintas fracciones nitrogenadas analizadas, disminuyendo el porcentaje de P.B. ligada a la F.N.D. (P.B. - F.N.D.) y aumentando el contenido en N.N.P. y la solubilidad de la P.B. en solución tampón al aumentar la proporción de leguminosas en el heno. El contenido en P.B. - F.N.D. y la solubilidad de la P.B. fueron sensiblemente superior e inferior, respectivamente, en el 2° frente al 4° corte. Por el contrario, los contenidos en N.N.P. presentaron una evolución diferente entre praderas disminuyendo y aumentando, respectivamente, con la predominancia de gramíneas (P1) y leguminosas (P3) y siendo constantes en la pradera de composición intermedia (P2).

La descomposición de la P.B. de los henos en las diferentes fracciones anteriormente descritas, se expone en el cuadro 2. Como puede apreciarse en todos los casos existió un periodo de latencia antes que las acciones degradativas microbianas resultasen aparentes. El valor de este tiempo se redujo al aumentar la proporción de leguminosas en el heno, siendo así mismo menor en el 4° corte frente al 2° corte. Las diferencias observadas entre praderas deben estar originadas por el menor espesor y resistencia de las cutículas en las leguminosas frente a las gramíneas, dado que la superficie cuticular representa una barrera frente a la digestión microbiana (SAKURAI, 1963), demostrando los trabajos *in sacco* de GRENET y DEMARQUILLY (1985) que la acción protectora de las cutículas frente a la degradación de los tejidos subyacentes es sensiblemente más intensa en las gramíneas que en las leguminosas. Adicionalmente, a los efectos protectores de la superficie cuticular, deben existir otros factores que condicionen el tiempo de latencia, habiéndose encontrado en este trabajo una relación entre la duración de este periodo y la proporción de proteína contenida en la pared celular (P.B. - F.N.D.):

$$t_0(h) = 0.02 + 0.22 \times \text{PB-FND} (\%); R^2 = 0.83; P < 0.05; n = 6.$$

Esta relación debe ser consecuencia de una menor accesibilidad de los enzimas proteolíticos microbianos al aumentar la proporción de la proteína del alimento que se localiza en la pared celular.

La fracción de materias nitrogenadas rápidamente desaparecidas de las bolsas por solubilización aumentó ( $P < 0.05$ ) con la proporción de leguminosas en el heno, como consecuencia de la mayor proporción de éstas últimas en contenidos celulares, ya que, las materias nitrogenadas solubles de los forrajes se localizan fundamentalmente en el contenido celular (DEMARQUILLY *et al.* 1.981). La fracción de nitrógeno soluble determinada con el empleo de bolsas de nylon, no pudo ser relacionada, sin embargo, ni con la solubilidad en solución tampón ni con el contenido en NNP de los henos.

La fracción de nitrógeno indegradable en el rumen fue aparentemente algo mayor en los henos provinientes de la pradera con predominancia de gramíneas (P1) que en la dominada por leguminosas (P3), presentando,

sin embargo, los henos de la pradera en equilibrio (P2) un contenido en nitrógeno indegradable superior a los anteriores. Así mismo se observó una tendencia ( $P < 0.1$ ) a un mayor contenido en nitrógeno indegradable en los henos obtenidos en el 4° corte frente al 2° corte.

La mayor parte de las diferencias observadas deben estar en relación con el grado de lignificación de los componentes celulósicos de los henos, que como ya ha sido señalado anteriormente fue superior en las muestras de las praderas P2 y en los henos correspondientes al 4° corte. Esta hipótesis es concordante con los resultados obtenidos por ALVIR (datos sin publicar) que muestran que la fracción de nitrógeno indegradable en el rumen está directa y estrechamente relacionada con el contenido en lignina del heno.

La proporción de proteína potencialmente degradable de los henos, está determinada por la importancia de las fracciones de proteína soluble y proteína indegradable compensándose, así, parcialmente la superior solubilidad de la proteína observada al aumentar la proporción de leguminosa con los menores valores de nitrógeno indegradable en éstas.

La velocidad horaria de degradación de esta fracción fue superior ( $P < 0.05$ ) en el 4° corte frente al 2°, observándose también un aumento aparente ( $P1 < P3 < P2$ ), en función de la composición botánica de los henos. El hecho de que la velocidad de degradación aumente marcadamente en aquellos casos (muestra P2 y henos de 4° corte) en los que se apreciaron aumentos del contenido en N indegradable y del grado de lignificación del material celulósico de la pared celular (LAD/FAD) es difícil de interpretar, si bien, cabe pensar que la facilidad de hidrólisis de la masa de proteínas potencialmente degradable debe de ser superior al excluirse de ésta una mayor cantidad de nitrógeno asociado con los tejidos lignificados.

Los valores medios obtenidos para la degradabilidad efectiva aumentaron ( $P < 0.05$ ) de 60.9 a 71.6% con la proporción de leguminosas en la pradera y de 65.1 a 68.2% del 2° al 4° corte, siendo los factores que presentaron una mayor incidencia sobre estos incrementos: el aumento del contenido en materias nitrogenadas solubles, la reducción del tiempo de latencia y la elevación de las velocidades de degradación.

Los resultados de este trabajo muestran que si bien la degradabilidad ruminal de la proteína de los henos de pradera presenta una amplia variación, ésta podría ser adecuadamente determinada a partir de su composición botánica y química.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Rafael Caballero su colaboración en la recolección de muestras utilizadas en este ensayo, así como la información sobre las características botánicas de las praderas.

Cuadro 1. Composición química de los henos

Henos de pradera:	P1-2°C	P2-2°C	P3-2°C	P1-4°C	P2-4°C	P3-4°C
	% sobre M.S.					
Cenizas	16,58	12,28	13,02	13,56	12,82	13,99
Extracto etéreo (E.E.)	1,64	2,00	2,46	2,51	2,12	1,88
Proteína bruta (P.B.)	14,70	16,76	22,29	16,70	18,22	23,41
Fibra neutro detergente (F.N.D.)	67,47	52,78	41,14	53,08	49,53	37,43
Fibra ácido detergente (F.A.D.)*	34,68	33,10	27,68	30,99	33,20	28,50
Fibra bruta (F.B.)	33,15	29,98	25,55	28,44	29,81	28,03
Lignina ácido detergente (L.A.D)	2,82	4,49	3,83	3,62	4,81	4,77
	% sobre P.B.					
P.B. ligada a F.N.D. (P.B.-F.N.D.)	44,32	24,01	18,81	24,71	18,61	11,67
Nitrógeno no proteico (N.N.P.)	27,48	29,12	32,66	23,77	28,92	37,72
Solubilidad <i>in vitro</i> de la P.B.	33,3	37,4	41,9	37,9	40,8	44,5

\* Libre de cenizas.

Cuadro 2.- Cinéticas de degradación y degradabilidad efectiva de la proteína bruta de los henos.

Henos de pradera:	P1-2°C	P2-2°C	P3-2°C	P1-4°C	P2-4°C	P3-4°C
Tiempo de latencia (h)	9,20	6,64	4,51	6,22	2,31	2,38
Proteína soluble (%)	45,7	51,7	52,3	45,3	43,2	52,6
Proteína degradable (B,%)	44,6	35,9	40,9	39,3	40,4	36,1
Proteína indegradable (A,%)	9,64	12,5	6,81	15,3	16,4	11,3
Velocidad de degradación (C,%/h)	4,11	6,43	5,66	7,36	11,2	8,67
Degradabilidad efectiva (D,%)	58,8	66,5	70,0	62,9	68,4	73,2

## BIBLIOGRAFIA

- A.O.A.C. (1970). "Official methods of analysis". III. Ed. Association of Official Agricultural Chemist. Washington, D.C. 957 p.p.
- ALVIR, María R.; GONZALEZ, J.; CAJA, G. y GALVEZ, J.F. (1987). "Relación entre la solubilidad y la degradación ruminal de la proteína en alimentos concentrados". Investigación Agrarias. Producción y Sanidad Animales. Vol. 2 (1). nº 1 43.
- A.R.C. (1980) "The nutrient requirements of ruminant livestock". CAB. 347 p.p.
- A.R.C. (1984). "The nutrient requirements of ruminant livestock". Nº 1. CAB. 45. p.p.
- DEMARQUILLY, C.; GRENET, E. y ANDRIEU, J. (1981). "Les constituants azotés des fourrages et la prévision de la valeur azotée fourrages". En: Previsión de la valeur nutritive des Aliments des Ruminants. Ed. INRA Publications. p. 129-154.
- GRENET, E. y DEMARQUILLY, C. (1985). "Rapels sur la gestion des fourrages dans le rumen (parois) et ses consequences". XVI Journées du Grenier de Theix. Clermont-Ferrand. Mayo, 1985. 20 p.p.
- INRA. (1978). "Alimentation des Ruminants". Ed. INRA. Publications. 621 p.p.
- MADSEN, J. (1985). "The basis for the proposed Nordic protein evaluation system: The AAT-PBV system". Acta Agric. Scand. Suppl. 25, 9.
- Mc DONALD, J. (1981). "A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen". J. Agric. Sci., Camb. 96, 251.
- Mc DOUGALL, E.I. (1948). "Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva". Biochem. J. 43: 99.
- ORSKOV, E.R. y Mc DONALD, I. (1979). "The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage". J. Agric. Sci. Camb. 92, 499.
- ROBERTSON, J.B. y VAN SOEST, P.J. (1981). "The detergent system of analysis and its application to human foods". En: The analysis of dietary fiber in food. Ed. W.P.T. JAMES y O. THEANDER. p. 123-158.
- SAKURAI, M. (1963). "Histological studies on the decomposition of pasture grasses tissue by livestock digestion". Nat. Inst. Animal Ind. Japan Publ. Nº 15.

### EFFECT OF RATIO OF GRASS: LEGUME IN HAY ON RUMEN DEGRADABILITY OF PROTEIN

#### SUMMARY

Four rumen-fistulated wether sheep were used to study, in sacco, the variation in ruminal protein degradability in 6 hays from the second fourth cuts of tree temporary swards with a decreasing ratio of grass to legume.

The soluble, potentially degradable and rumen undegradable nitrogen fractions were calculated from the kinetics of nitrogen degradation; the rate of degradation and the lag time, before the onset of degradation were also determined. The observed variations in these fractions were discussed in relation to the botanical and chemical composition of hays.

Mean nitrogen degradability increased ( $P < 0.05$ ) from 60.9 to 71.6% with increasing proportion of legume in the hay. Nitrogen degradability also increased ( $P < 0.05$ ) from 65.1 to 68.2 from the second to the fourth cut. The main factors responsible for these increments were increases in the soluble nitrogen content of the hay, reductions in lag time and increases in degradation rates.