



UNSE
Universidad Nacional
de Santiago del Estero

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SANTIAGO DEL ESTERO

FACULTAD DE AGRONOMÍA Y AGROINDUTRIAS

Trabajo de Tesis para obtención del Grado Académico de:

Magister en Produccion Animal

**“EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN ENERGÉTICO-PROTEICA SOBRE LA UTILIZACIÓN
DE GRAMÍNEAS SUBTROPICALES DE BAJA CALIDAD, EN CORDEROS BEBIENDO AGUA
DE ALTO TENOR SALINO.”**

Ingeniera Agrónoma Úrsula Ingrid Wolf Celoné

Director de Tesis: Ing. Agr., MSc., Ph.D. José Ignacio Arroquy

Lugar de realización: INTA EEA Santiago del Estero

-AÑO 2019-



MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN ANIMAL

Comisión de supervisión:

- Lic. Qca., Dra, Mariana Elisa García
- Ing. Agr. MSc., Ph.D. Gustavo Jaurena

Tribunal examinador:

- M.V., Dr., Enrique Yañez
- Ing. Zoot., Dr., Harold Vega Parry
- M.V., Dr., Osvaldo Balbuena

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis José Arroquy, por ser una persona de bien y de gran corazón, quien aun sin conocerme, me dio la oportunidad de comenzar a trabajar en investigación y hasta hoy sigue siendo un ejemplo para mí de trabajo, motivación y liderazgo.

A Agustín López, por el apoyo, la paciencia y el consejo, durante todo el tiempo que duro el desarrollo de este posgrado.

A Javier, mi amado compañero y amigo con quien formamos una familia hermosa, que durante esta etapa siempre me apoyó de manera incondicional y me alentó para seguir adelante, motivándome con amor, caminando juntos cada paso.

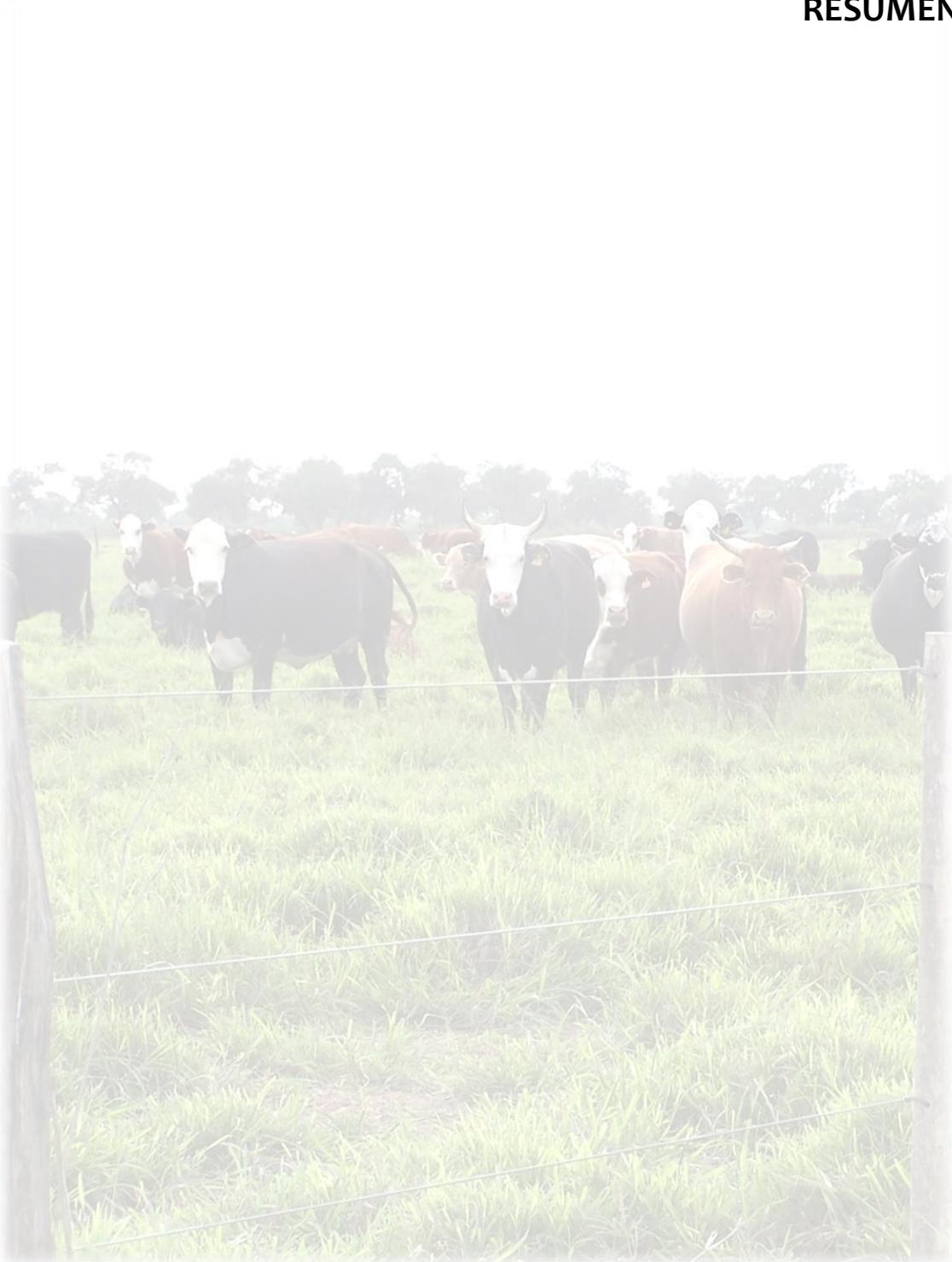
Principalmente a DIOS, creador y consumidor de todas las cosas, que me da cada día la posibilidad de despertar, vivir y disfrutar de Su creación.

DEDICATORIA

*A mis padres, Roberto y Susana,
que dieron todo lo que estuvo a su alcance para que pueda llegar a la obtención de un título universitario, y desde ese entonces me alientan a seguir progresando, alegrándose genuinamente como el primer día, con cada nuevo logro alcanzado. Les agradezco y los amo profundamente.*

*“El temor de Jehová es el principio de la sabiduría, y el conocimiento del Santísimo es la
inteligencia”. Proverbios 9: 10 (RVR 1986)*

RESUMEN



RESUMEN

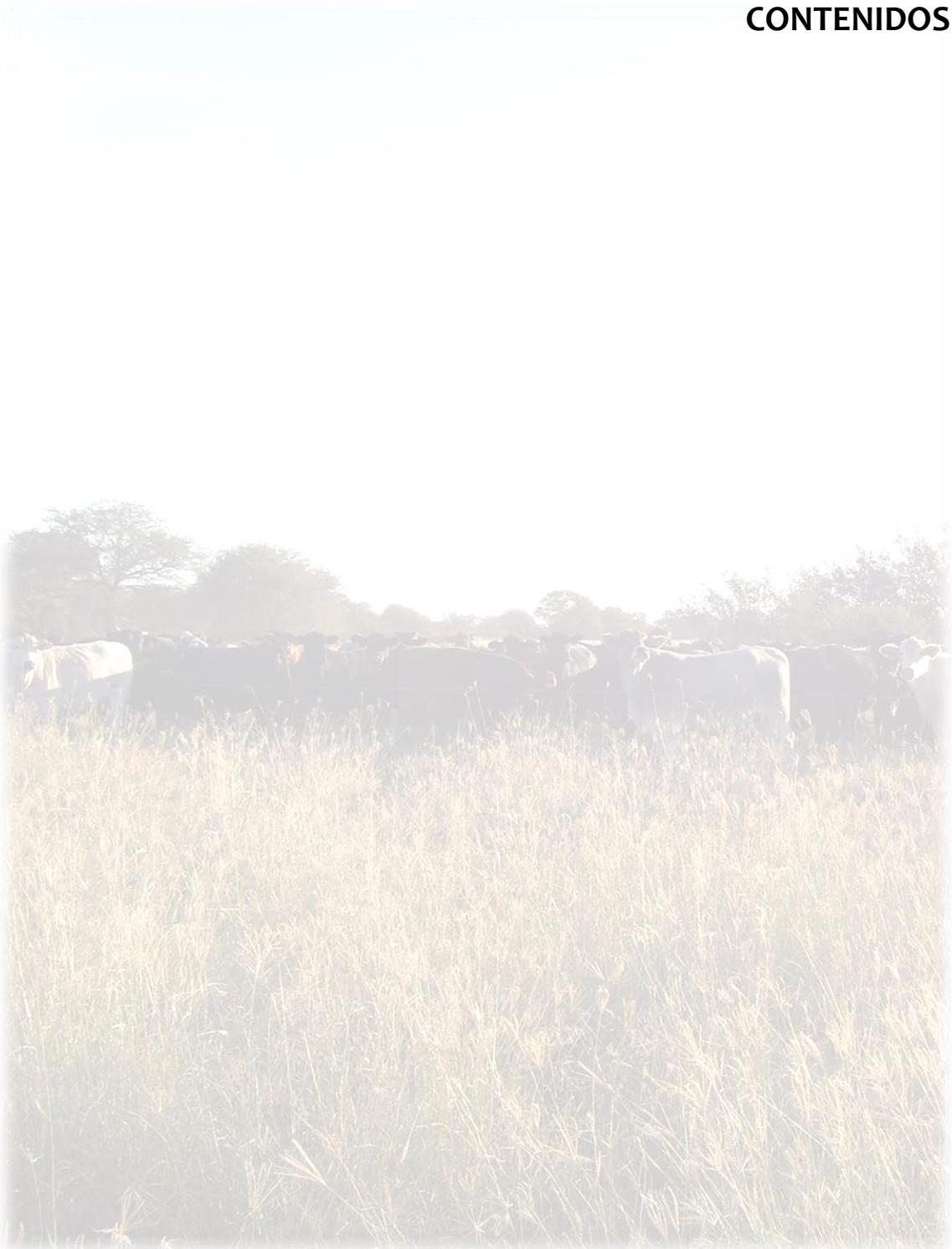
En gran parte del Noroeste Argentino, la baja calidad de las pasturas de gramíneas C_4 , durante la estación seca y las aguas de bebida altas en sulfatos, constituyen una limitación importante para la ganadería. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación energético-proteica sobre la utilización del forraje de baja calidad y el balance de N y la producción ruminal de sulfuro de hidrógeno gaseoso en ovinos bebiendo agua con elevados niveles de sulfatos. Se utilizaron 18 corderos Hampshire Down en jaulas metabólicas individuales, alimentados con heno de Gatton panic (*Megathyrus maximus var Gatton*; PB: 5,3%; FDN; 81,9%) y con agua de elevado contenido salino (7947 mg/l STD; 4430 mg/L $SO_4^{=}$), en un diseño factorial utilizando 3 niveles de suplementación energética (SE; grano de maíz, 0, 0,5 y 1,0% PV;) y 2 niveles de suplementación proteica (SP; harina de soja, 0 y 0,75% PV). El consumo de agua (CA) fue mayor en tratamiento con SP ($P < 0,01$). El consumo de materia orgánica de forraje (MOF; $P = 0,04$) disminuyó con la SP, mientras que el consumo de materia orgánica total (MOT), consumo de materia orgánica total digestible (MOTD), aumentaron en respuesta a la SP ($P < 0,01$). En cambio, el consumo de FDN (CFDN; $P = 0,30$), y el consumo de FDN digestible (FDND; $P = 0,86$) no fueron afectados por SP. La SE aumentó de manera cuadrática el MOT ($P = 0,03$), el MOTD ($P = 0,01$). El CA ($P = 0,10$), MOF ($P = 0,08$), CFDN ($P = 0,03$) y FDND ($P = 0,02$) aumentaron en respuesta a la SE. La interacción SE \times SP afectó significativamente ($P < 0,05$) todas las variables de digestibilidad evaluadas, excepto la digestibilidad de la MO total (DMOT; $P = 0,69$) que aumentó en respuesta a la SP ($P < 0,01$) y a la SE ($P < 0,01$; Lineal). La interacción SE \times SP afectó el balance de N ($P = 0,04$) y la retención de N como porcentaje del total del N consumido (N consumido/ N retenido; $P = 0,02$). La concentración ruminal de gas sulfuro de hidrógeno (H_2S) fue afectada por la interacción entre los niveles de SE y SP ($P = 0,03$). La suplementación

energético - proteica de forrajes de baja calidad, en situaciones de consumo de agua de alto contenido de sulfatos, permite corregir y mejorar la eficiencia de uso el nitrógeno, sin generar riesgos de toxicidad por sulfatos.

ABSTRACT

In a large portion of the Northwest of Argentina, low-quality C₄ grasses during the dry season as well as high sulfates drinking water are a limiting factor for livestock production. Thus, the objective of this work was to evaluate the effect of energy and protein supplementation on low-quality forage utilization, the N balance and the rumen production of gaseous hydrogen sulfide in lambs drinking high sulfates waters. Eighteen Hampshire-down lambs housed in individual metabolic cages fed with Gatton panic hay (*Megathyrus maximus var Gatton*; CP: 5,3%; NDF: 81,9%) and drinking high salt water (7947 mg/l TDS; 4430 mg/L SO₄⁻) were utilized in a factorial design with three energy (SE; corn grain, 0, 0,5 and 1,0% BW) and two protein supplementation levels (SP; soybean meal, 0 and 0,75% BW). Water intake was higher in SP (P < 0,01). FOMI (P = 0,04) decreased in response to SP, while TOM and TDOM increased in response to SP (P < 0,01). Whereas, NDFI (P = 0,30), and DNDF (P = 0,86) were not affected by SP. Energy supplementation quadratically increased TOM (P = 0,03) and TDOM (P = 0,01). WI (P = 0,10), FOM (P = 0,08), NDFI (P = 0,03) and DNDF (P = 0,02) increased in response to SE. SE × SP interaction affected (P < 0,05) all digestibility traits evaluated, except TOMD (P = 0,69). TOMD increased in response to SP (P < 0,01) and SE (P < 0,01; Linear). The interaction SE × SP affected N balance (P = 0,04) and N balance as proportion of total N intake (N retained/ N intake; P = 0,02). Ruminal hydrogen sulfide was also influenced by the interaction SE × SP (P = 0,03). Low-quality forage supplementation with energy and protein, with high sulfate drinking water, allows to correct and improve N usage without toxicity risk to sulfates.

CONTENIDOS



INDICE GENERAL

Resumen.....	i
Abstract.....	iv
Índice general.....	v
Índice de tablas.....	viii
Índice de figuras.....	x
Listado de abreviaturas.....	xi
Capítulo I: Introducción y revisión de antecedentes.....	1
1. Introducción.....	2
2. Revisión de antecedentes.....	3
2.1. Forrajes de baja calidad.....	3
2.2. Suplementación de forrajes de baja calidad.....	4
2.2.1. Suplementación proteica.....	4
2.2.2. Suplementación energética.....	12
2.2.3. Suplementación energética – proteica.....	14
2.3. Limitaciones generales del agua de bebida de alto tenor salino.....	16
2.3.1. Composición de sales: NaCl vs SO ₄ ⁼	19
2.3.2. Aguas con sulfatos y suplementación energético- proteica.....	24
Capítulo II: Hipótesis y objetivos.....	27
1. Hipótesis.....	28
2. Objetivos.....	28
Capítulo III: Materiales y Métodos.....	29

Materiales y métodos.....	30
1.1. Ubicación geográfica.....	30
1.2. Diseño experimental.....	30
1.3. Alimentación y muestreo.....	32
1.4. Determinaciones.....	33
1.4.1. Determinaciones de composición de alimentos.....	33
1.4.2. Determinaciones de consumo, digestibilidad y balance de N.....	34
1.4.3. Determinaciones en orina.....	34
1.4.4. Determinaciones de sulfuro de hidrogeno.....	35
1.5. Análisis estadísticos.....	35
Capítulo IV: Resultados.....	38
Resultados.....	39
1.1. Consumo de alimento y agua.....	39
1.2. Digestibilidad.....	41
1.3. Uso del Nitrógeno.....	43
1.4. Consumo de azufre y producción de sulfuro de hidrogeno ruminal.....	46
Capítulo V: Discusión e implicancias.....	49
1. Discusión.....	50
2. Conclusión e implicancias.....	60
Capítulo VI: Bibliografía.....	61
Referencias bibliográficas.....	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Efecto de la suplementación proteica, con fuentes puras o concentrados proteicos, sobre el consumo y digestión de forrajes de baja calidad.....	8
Tabla 2. Efecto del tipo y cantidad de sales sobre el consumo de agua, consumo de MS y ganancia diaria de peso	18
Tabla 3. Composición química del heno (<i>Megathyrus maximus</i> , var. <i>Gatton panic</i>) y suplementos.....	31
Tabla 4. Sólidos totales disueltos, pH, y composición mineral (mg/L) del agua de suministrada.....	31
Tabla 5. Valores promedio y error estándar de la media (EEM) del consumo de agua y alimentos en corderos alimentados con heno, suplementados con diferentes niveles de energía y de proteína y bebiendo agua de alto tenor de sulfatos.....	40
Tabla 6. Valores promedio y error estándar de la media (EEM) de la digestibilidad del alimento en corderos alimentados con heno, suplementados con diferentes niveles de energía y de proteína y bebiendo agua de alto tenor de sulfatos.....	42
Tabla 7: Valores promedio y error estándar de la media (EEM) del uso y balance de Nitrógeno en corderos alimentados con heno, suplementados con diferentes niveles de energía y de proteína y bebiendo agua de alto tenor de sulfatos.....	45

Tabla 8. Valores promedio y error estándar de la media (EEM) de la producción y concentración de urea en orina de corderos alimentados con heno, suplementados con diferentes niveles de energía y de proteína y bebiendo agua de alto tenor de sulfatos..... 45

Tabla 9. Valores promedio y error estándar de la media (EEM) del consumo de azufre de corderos alimentados con heno, suplementados con diferentes niveles de energía y de proteína y bebiendo agua de alto tenor de sulfatos..... 47

Tabla 10. Valores promedio y error estándar de la media (EEM) de la concentración ruminal de gas H₂S de corderos consumiendo forraje de baja calidad, suplementados con diferentes niveles de energía y de proteína y bebiendo agua de alto tenor de sulfatos..... 47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del mecanismo de producción de H ₂ S en el rumen.....	23
Figura 2. Eficiencia de uso del N (g N consumido /kg de N retenido) de corderos sin suplementación proteica (0%PV) y con suplementación proteica (0,75% PV) para tres niveles de suplementación energética (0; 0,5 y 1% de peso vivo; %PV).....	44
Figura 3. Concentración ruminal de gas H ₂ S (ppm) en corderos consumiendo forraje baja calidad y agua de alto tenor de sulfatos a las 0, 4, 8 y 12 horas post alimentación.....	48

LISTADO DE ABREVIATURAS

AOAC: Asociación de Químicos Analíticos Oficiales

C₃: Metabolismo Carbono 3

C₄: Metabolismo Carbono 4

CA: Consumo de agua

CMOTD: Consumo de materia orgánica total digestible

CNF: Carbohidratos No Fibrosos

CPB: Consumo de Proteína Bruta

CFDA: Consumo Fibra Detergente Acido

CFDN: Consumo de Fibra Detergente Neutro

CSA: Consumo de azufre en agua

CST: Consumo de azufre total

CUU: Concentración de Urea Urinaria

DDGS: Granos secos de destilería con solubles

DFDA: Digestibilidad de la Fibra Detergente Acido

DFDN: Digestibilidad de la Fibra Detergente Neutro

DMOT: Digestibilidad de la Materia Orgánica Total

DPB: Digestibilidad de la Proteína Bruta

EEM: Error estándar de la media

EM: Energía metabolizable

FDA: Fibra detergente Acido

FDAD: Consumo de Fibra detergente Acido Digestible

FDN: Fibra detergente neutro

FDND: Consumo de Fibra detergente Neutro Digestible

GDP: Ganancia diaria de peso

H: Hora

H- NH₃: Nitrógeno amoniacal
H₂S: Sulfuro de hidrógeno
HCl: Ácido Clorhídrico
INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
mg/L: miligramos / Litro
MgCl: Cloruro de magnesio
MgSO₄: Sulfato de magnesio
MO: Materia Orgánica
MOF: Consumo de materia orgánica de forraje
MOT: Consumo de materia orgánica total
MOTD: Materia Orgánica Total Digestible
MS: Materia seca
N: Nitrógeno
Na₂SO₄⁻: Sulfato de sodio
NaCl: Cloruro de sodio
NOA: Noroeste Argentino
NRC: National Research Council
N-urea: Nitrógeno- urea
PB: Proteína Bruta
PBD: Consumo de Proteína Bruta Digestible
PDR: proteína degradable en rumen
PEM: Polioencefalomalacia
PNDR: Proteína no degradable en rumen
ppm: Partes por millón
PTO: Producción total de orina
PV^{0,75}: Peso metabólico
PV: Peso Vivo

S: Azufre

SE: Suplementación Energética

SO₄⁻: Sulfatos

SP: Suplementación Proteica

SRB: Bacterias Reductoras de Azufre

STD: Sólidos Totales Disueltos

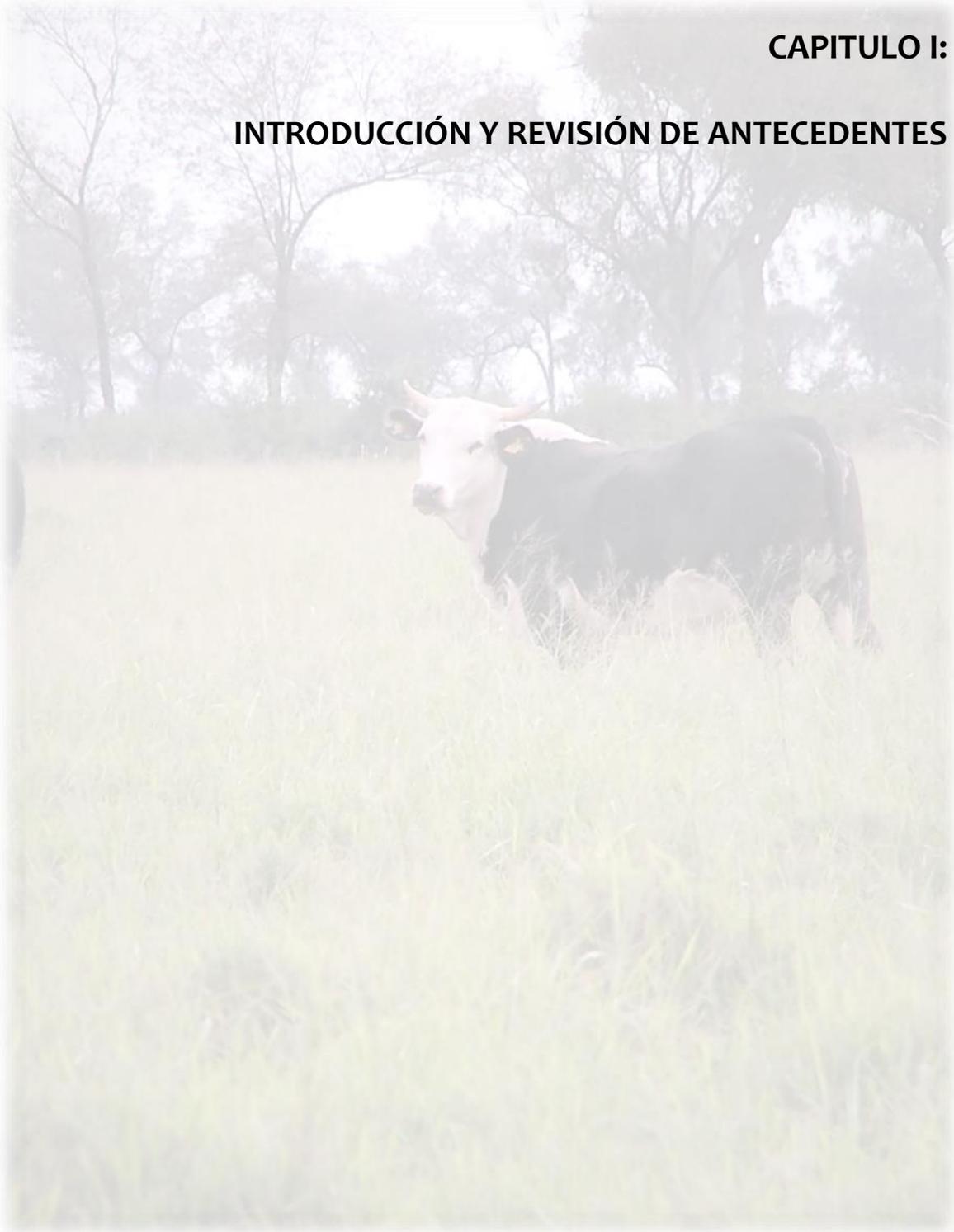
TND: Total Nutrientes Digestibles

VOT: Volumen de Orina Total

VTUU: Volumen Total de Urea Urinaria

CAPITULO I:

INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE ANTECEDENTES



1. INTRODUCCIÓN

Los forrajes de mediana y/o baja calidad (pasturas naturales o gramíneas cultivadas C_4 senescentes o diferidas) se caracterizan por su alto contenido de fibra mayormente indigestible, debido al alto grado de lignificación de los carbohidratos estructurales y al bajo contenido proteico (Caton y Dhuyvetter, 1997). Dichos atributos determinan que en ciertas estaciones del año y en estados fenológicos avanzados el consumo de estos forrajes se ubique muy por debajo de las necesidades de consumo para mantenimiento. Esta característica es la predominante en los sistemas productivos ganaderos del Noroeste argentino (NOA) durante gran parte del año limitando la obtención de niveles de producción animal aceptables si no son corregidas las deficiencias de proteína y/o energía.

En Argentina, el agua subterránea constituye la principal fuente para el consumo de los bovinos y particularmente en la región NOA, con excepción de algunas áreas. Las fuentes de agua subterráneas con cantidades de sales disueltas lo suficientemente elevadas como para afectar la producción animal (Basán Nickisch, 2007) son frecuentes, representando una de las principales limitantes para el desarrollo ganadero. En términos generales el NRC (2016) establece que niveles superiores a 5000 mg/l de sólidos totales disueltos (STD) y 1000 mg/l como sulfatos ($SO_4^{=}$), podrían afectar la productividad de bovinos para carne. Para rumiantes menores, los valores de referencia son similares, considerando que las aguas que contienen 4900 mg/l de STD y 1000 mg/l de $SO_4^{=}$, pueden ser rechazadas temporalmente y ocasionar pérdidas en el consumo de alimento en animales jóvenes (Peirce, 1960; NRC, 2007).

La baja calidad invernal de las pasturas y el elevado contenido de sales en el agua de bebida, afectan el consumo voluntario, el metabolismo y absorción de nutrientes representando una

limitación relevante para la ganadería regional. En este sentido, resulta valioso estudiar y entender como aguas con concentraciones de sales superiores a los umbrales reportados puedan ser aprovechadas y aceptadas por los rumiantes sin comprometer la salud, el bienestar y la productividad animal (Beede, 2012).

2. REVISIÓN DE ANTECEDENTES

2.1. Forrajes de baja calidad

Los forrajes de baja calidad son el recurso más importante con el que se sostiene la ganadería de pequeños y grandes rumiantes en diferentes regiones del mundo. Las gramíneas tropicales C_4 generalmente son más fibrosas, contienen menores niveles de PB, energía metabolizable (EM), y maduran más rápido que las pasturas templadas (metabolismo C_3) (Dixon y Coates, 2010). Tanto las gramíneas tropicales como las pasturas naturales senescentes o diferidas, cuando finalizan la estación de crecimiento y durante la estación seca, sufren un drástico descenso en la calidad nutricional, debido a un incremento significativo de la pared celular (Wilson, 1994), mayormente indigestible. El alto grado de lignificación de los carbohidratos estructurales y una disminución marcada del contenido proteico (Caton y Dhuyvetter, 1997; Detmann et al., 2014) son las principales causas de esta caída en la calidad de estas especies.

En el Noroeste Argentino (NOA), la concentración de las precipitaciones durante el período estival determina que en estos sistemas ganaderos el forraje de buen valor nutritivo solo esté disponible durante el periodo de la estación lluviosa. Durante el verano la calidad de las

pasturas permite obtener buenas ganancias de peso vivo, mientras que en la estación seca y en estados fenológicos avanzados, la calidad de estos forrajes cambia marcadamente, limitando el consumo, provocando que este se ubique muy por debajo de las necesidades de consumo para mantenimiento (Cornacchione et al., 2008). Es así que, en esta época del año, para obtener niveles de producción animal aceptables es necesario corregir las deficiencias de proteína y/o energía.

El bajo contenido de PB es un punto crítico para una adecuada utilización de los carbohidratos fibrosos del forraje base (Hennessy et al., 1983; Leng, 1990). Cuando los animales consumen forrajes de baja calidad – PB% < 7 – se genera una deficiencia de NH₃ – N amoniacal – a nivel ruminal, reduciéndose la actividad hidrolítica de la microflora ruminal. En consecuencia, el consumo de materia seca, la utilización del forraje y la performance animal es limitado (Egan y Doyle, 1985; Leng, 1990; Wickersham et al., 2004; Paulino et al., 2008). Bajo estas condiciones, la suplementación (i.e., proteica y energética) es una herramienta clave para mejorar el desempeño animal en forrajes de baja calidad (Leng, 1990; Lazzarini et al., 2009; Souza et al., 2010; Detmann et al., 2014).

2.2. Suplementación de forrajes de baja calidad

2.2.1. Suplementación Proteica

La limitante primaria para la digestión y uso efectivo del forraje de baja calidad, es el bajo contenido de proteína o nitrógeno degradable en rumen (PDR). La suplementación con PDR mejora principalmente el aprovechamiento de los forrajes de baja calidad (Cochran et al., 1998). La suplementación proteica de forrajes de baja calidad es una práctica comúnmente aceptada en la producción ganadera bovina (Clanton, 1982), donde hay limitaciones en el consumo

voluntario y en la digestibilidad (Rittenhouse, 1970). La suplementación proteica de forrajes deficientes en N en rumiantes tiene como objetivo cubrir los requerimientos de N de los microorganismos ruminales y el estatus nitrogenado del animal mediante el aporte proteico necesario, para mejorar el desempeño animal. La respuesta a la suplementación proteica en general se observa cuando el contenido de proteína del forraje basal es menor al 6 - 8% (DelCurto, et al., 2000)

La suplementación de forrajes de baja calidad con PDR generalmente estimula el consumo y la digestión del forraje (Köster et al., 1996; Mathis et al., 2000; Arroquy et al., 2004), lo cual se ve reflejado en un mejoramiento sustancial del desempeño animal (Marston et al., 1995; Banta et al., 2006; Steele et al., 2007). Si bien los requerimientos de PDR, varían con las características inherentes de cada forraje (Koster et al., 1996; Mathis et al., 2000), es comúnmente aceptado que el rango del contenido de PDR para maximizar la utilización del forraje debe ubicarse entre 7 a 13% de la materia orgánica digestible (MOD o TND; Hollingsworth-Jenkins et al., 1996; Cochran et al., 1998). Wickersham et al. (2008) registraron incrementos en el consumo de MO, digestibilidad de MO y FDN de forrajes de baja calidad suplementados con PDR.

Sin embargo, la respuesta a la suplementación proteica es variable y la magnitud de respuesta está en relación a múltiples factores inherentes al tipo de forraje, animal y suplementos. En la Tabla 1 se reportan valores de 14 estudios de suplementación proteica de forrajes de baja calidad (Rango de PB: 1,9-8,2%). En 13 estudios la suplementación proteica mejoró al menos consumo o digestibilidad del forraje, mientras que en solo un estudio no se observó ningún tipo de mejora por la suplementación proteica en la utilización del heno de baja calidad.

La magnitud de respuesta en consumo varió aproximadamente entre 5 y 200% respecto al control. No obstante, el impacto en la digestibilidad del forraje fue menor en todos los estudios (Tabla 1). Mertens (1994) y Ferrell et al. (1999) sugieren que el efecto positivo y la magnitud de respuesta a la suplementación proteica sobre el consumo de forraje, tiene relación con el consumo de FDN basal (sin suplementación). Es decir, si el consumo de FDN basal es elevado, no se deberían esperar respuestas importantes a la suplementación proteica aun en forrajes con bajo contenido proteico. Mathis et al. (2000) sostienen que la respuesta a la suplementación proteica sobre el consumo de MO de forraje, total y digestibilidad de la MO, tiene relación con el contenido de PB del forraje base, obteniendo respuestas positivas cuando el contenido proteico del forraje estuvo por encima de 4,3%. Otros autores (Kucseva y Balbuena, 2003) sugieren que la suplementación proteica generalmente optimiza la utilización de forrajes de baja calidad, cuando se incluye entre el 0,4 al 0,6% del peso vivo, en un rango de 35-40% PB, según la fuente utilizada (i.e.; expeler de soja, harina de algodón, expeler de girasol). Lazzarini et al. (2009), sugieren que al menos el 7% de PB es necesaria en la dieta para mantener el crecimiento microbiano y apoyar la digestión eficiente de carbohidratos fibrosos de forrajes de baja calidad, encontrando en su trabajo que el nivel permitió un nivel óptimo de aprovechamiento forrajes tropicales de baja calidad fue de 11% PB en la dieta.

Por otro lado, en estudios realizados con ovinos Salisbury et al. (2004) y Chandrasekharaiah et al. (2012), reportaron que el consumo de forrajes de baja calidad (4,3% PB; > 70% FDN) fue superior en los corderos no suplementados, mostrando un descenso del consumo de forraje ante el agregado de una fuente de proteína suplementaria. Mc Guire et al. (2013) encontraron que la suplementación proteica pudo mejorar el consumo de MO de forraje en

novillos consumido heno de 4,7% PB, mientras que no fue así con corderos consumiendo el mismo alimento. Estas respuestas pueden tener relación con las diferencias en el consumo y la digestibilidad de la materia seca ante variaciones en la disponibilidad de nutrientes (i.e. PB, FDN, FDA), reportadas por Riaz (et al., 2014) para las diferentes especies de rumiantes.

Por otro lado, el aporte de suplementos de alta digestibilidad (elevado contenido de TND), sumado a un consumo de forraje inicialmente elevado (superior al 1,75% del peso vivo), producirían una disminución en el consumo de forraje ante suplementación (Moore et al., 1999; Bodine et al., 2000; Currier et al. 2004) principalmente asociado a un efecto de sustitución.

Tabla 1. Efecto de la suplementación proteica, con fuentes puras o concentrados proteicos, sobre el consumo y digestión de forrajes de baja calidad (14 Experimentos, 66 tratamientos, 9 tipos de forrajes de baja calidad).

Referencia bibliográfica	categoría animal y peso	Tipo de forraje dieta base	Tratamiento de suplementación	Consumo de MS		Digestión del forraje		Información complementaria	
				Forraje	Total	MS	FDN		
Koster et al., 1996	vacas 580 kg	Pastura natural 1,9%PB		g/d PDR	g/kg PV ^{0,75}		%		Caseína intraruminal
			1)	0	29,3	29,3	44,6	50,3	
			2)	180	48,1	49,7	54,3	58,7	
			3)	360	57,3	60,5	54,2	57,9	
			4)	540	64,7	69,6	51,3	54,6	
Mathis et al., 2000	novillos 296 kg	Pasto bermuda 8,2% PB		%PV	g/kg PV ^{0,75}		%		Caseína intraruminal
			1)	0	94,4	94,4	63,2	65,9	
			2)	0,041	85,7	87,5	60	62,2	
			3)	0,082	88,7	92,3	64,2	64,3	
	novillos 306 kg	Pasto bromus 5,9% PB							
			1)	0	106	106	58,4	52,5	
			2)	0,041	113,4	115,2	60	54,1	
			3)	0,082	116,7	120,3	60,8	54,7	
	novillos 289 kg	Sorgo forraje 4,3% PB							
			1)	0	63,6	63,6	46,3	35,3	
			2)	0,041	78,5	80,4	54,1	44,1	
			3)	0,082	86,6	90,4	59	51,7	
			4)	0,124	88,4	94,1	61,7	54,4	

Tabla 1: continúa

Author	Animal	Forage			g/kg PV		%		
Bohnert et al., 2002a	capones 36 kg	Heno pastura 5% PB	1)	0	22,1	22,1	50,4	45,9	PDR : 82% PB; Expeler de soja PNDR: 60% PB; Expeler se soja procesado + harina de sangre + melaza
			2)	PDR DIARIO	22,5	26,2	58,7	53,1	
			3)	PDR 3 D	21,1	24,8	57,8	53,9	
			4)	PDR 6 D	20,7	24,3	56,6	49,7	
			5)	PNDR DIARIO	24,7	27,8	57,3	53,2	
			6)	PNDR 3 D	23,6	26,7	59,1	57,8	
			7)	PNDR 6D	20,1	23,1	59,4	57,4	
Salisbury et al., 2004	capones 48,7 kg	Pastura mezcla 7,5% PB		g/d		g/d		%	Isoproteicos: 70 g/d PB PDR: expeler de soja PNDR: harina de pluma y de sangre
			1)	0	816	816	50,2	66,3	
			2)	24,8 PNDR	653	883	53,2	59	
Swanson et al., 2004	corderos 46 kg	Heno Bromus 5% PB		%		g/d		%	R: Caseína intraruminal A: caseína intra abomasal
			1)	0	469	469	38,3	43,9	
			2)	100R:0A	537	607	49,1	48,7	
			3)	67R:33	661	731	49,6	43,6	
			4)	33R:67	542	612	47,8	44,6	
Wickersham et al., 2008	novillos 278 kg	Heno pastura 4,9% PB		mg N/kg PV		kg/d		%	Caseína intraruminal
			1)	0	4,47	4,47	49,8	47	
			2)	59	5,43	5,53	52	49,6	
			3)	118	6,17	6,37	55	52,8	
			4)	177	6,9	7,21	56,9	54,3	
Souza et al., 2010	Vaquillonas 232 kg	Brachiaria decumbens 5,16%PB		g/kg MS		kg/d			Urea+sulfato amonio+ Albumina intrarruminal
			1)	0	3,46	3,46	1,07	1,16	
			2)	100	4,24	4,48	1,98	1,76	

Author	Animal	Forage		g/kg CMOD	g/d	%	Expeller de soja	
Chandrasekharaiah et al., 2012	ovejas 19,5 kg	Heno mijo 4,34% PB	1)	0	516	516	53,6	58,2
			2)	16,2	435	548	63,6	68,7
			3)	20,7	407	562	64,4	69,2
			4)	24,7	398	594	63,6	67,7
			5)	26,6	387	616	68,7	71
McGuire et al., 2013	capones 52 kg	Heno festuca 4,7%PB		% PB	g/kgPV ^{0,75}	%	29% PB: urea; 26%PB: Expeller soja	
			1)	0	23,2	23,2	37,9	42,7
			2)	29 D	23,2	26,7	42,4	45,9
			3)	29 DxMEDIO	21,5	25	42	43,8
			4)	26 D	22,5	26	43,9	45,9
López et al., 2014	novillos 375 kg	Heno Gatton panic 7%PB		% PV	g/kgPV ^{0,75}	g/kgPV ^{0,75}	Expeller de soja AD: agua dulce AS: agua salada	
			1)	0 AD	46	46	28,5	27,4
			2)	0,2 AD	55,7	63,4	36,2	29,2
			3)	0,4 AD	55,5	71,1	43,12	31,6
			4)	0 AS	33	33	21,1	19,7
			5)	0,2 AS	40,9	48,6	29,5	23,3
López et al., 2017	capones 31 kg	Heno Gatton panic 6,4% PB		% PV	g/kgPV ^{0,75}	g/kgPV ^{0,75}	Expeller de soja El Consumo es de MO la digestibilidad es de MO TOTAL AD: agua dulce AS: agua salada	
			1)	0 AD	37,9	37,9	50	56,1
			2)	0,25 AD	37,1	37,1	53	52
			3)	0,50 AD	33,2	33,2	51,2	46,4
			4)	0,75 AD	29,1	29,1	60,6	50,9
			5)	1 AD	27,7	27,7	62,2	48,2
			6)	0 AS	23,9	23,9	53,1	56,2
			7)	0,25 AS	26,6	31,6	56,1	51,9
			8)	0,50 AS	28,9	38	56,3	51,3
			9)	0,75 AS	25,7	39,4	67,6	58,9
10)	1 AS	25,3	43,5	63,6	50			

Cuando se alimentan rumiantes con forrajes de baja calidad, diferentes mecanismos de ahorro y reciclado de N intervienen para asegurar un suministro de N endógeno a los microorganismos ruminales para la síntesis de proteína microbiana. La disponibilidad de proteína o N ruminal depende del tipo de proteína, de la tasa de dilución, pH ruminal, sustrato y especies que predominan en la flora ruminal. El flujo de N microbiano está negativamente relacionado con el pH ruminal. Cuando la PDR excede la cantidad requerida por los microorganismos del rumen, el exceso de N amoniacal ruminal producto del metabolismo microbiano de compuestos nitrogenados, es absorbido, metabolizado a urea en el hígado y excretado a través de la orina (Bach et al., 2005).

Por su parte, la PNDR puede incrementar la tasa de digestión y pasaje como resultado del reciclado de N (NRC, 1985), aunque la suplementación con PNDR es menos eficiente que la PDR (Bandyk et al., 2001; Stefan, 2013). Es así que el aporte de N ruminal no solo depende de la PDR sino también del reciclado de N en forma de urea (Van Soest, 1994). El nivel de urea en plasma es el factor principal que determina la cantidad de nitrógeno reciclado al retículo-rumen (Godwin y Williams, 1986). Cuando los forrajes son muy deficientes en N, aumenta el reciclaje de N-urea, que se hace evidente por una baja concentración de urea en plasma, baja concentración de amoníaco ruminal y menor excreción de urea urinaria (Wickersham et al., 2008). El riñón cumple una destacada función regulando la conservación o excreción de N en forma de urea. Al respecto, Leng et al. (1985) y Cirio y Boivin (1990) han observado reducciones en la filtración del plasma e incrementos en la reabsorción de urea en los conductos colectores del riñón (Isozaki et al., 1994) en animales consumiendo dietas con bajos contenidos de N.

La habilidad de reciclar el N que tiene los rumiantes, permite que sean capaces de mantener la eficiencia de uso del N, a través del mantenimiento de elevados niveles de urea-N en plasma por períodos prolongados de tiempo, entre eventos de suplementación (Bohnert, et al., 2002).

En base a la información revisada, en general se observa que la suplementación proteica mejora la utilización de forrajes de baja calidad. No obstante, pocos trabajos han abordado el impacto de la suplementación nitrogenada en bovinos y ovinos bebiendo aguas con elevados tenores de sulfatos, un aspecto que suele ser una situación frecuente en áreas tropicales y subtropicales ganaderas.

2.2.2. Suplementación energética

La suplementación proteica corrige las deficiencias de N para optimizar la utilización de los forrajes de baja calidad. Sin embargo, cuando es necesario incrementar el nivel productivo por encima de lo que se obtiene con la corrección proteica (Arroquy et al., 2004) se requiere del suministro de energía para aumentar el estatus energético del animal. Para ello es común recurrir a suplementos energéticos (granos o subproductos) debido al aporte de carbohidratos no fibrosos (CNF) (i.e.; glucosa, fructosa, sacarosa, almidón) de elevado contenido de energía.

Henning et al. (1980), en un ensayo para evaluar el impacto de la suplementación con CNF sobre el consumo y digestión de forrajes de baja calidad, reportaron que la suplementación con pequeñas cantidades (7- 8% del consumo total de MS) de grano de maíz estimulan el consumo de forraje, pero niveles superiores al 23% del consumo total de MS lo deprimen.

En diversos estudios otros autores (Chase y Hibberd, 1987; DelCurto et al., 1990; Sanson et al., 1990) han observado que el uso de niveles elevados de CNF suplementarios comúnmente deprime la digestión y consumo de forrajes de baja calidad. Sin embargo, hay reportes que

indican que la suplementación de forrajes con concentrados energéticos puede mejorar la eficiencia de uso del alimento (Reis et al., 2001). Bowman y Sanson (1996) y Garcés-Yépez et al. (1997), por su parte, sugieren que la suplementación energética por encima del 0,5 al 0,8 % del peso vivo para fuentes de almidón y/o fibra disminuye el consumo de forraje. Esta respuesta está asociada con un efecto de sustitución (DelCurto et al., 1990a) de concentrado por forraje, y al impacto negativo que ejerce mediante la disminución del pH ruminal y la digestibilidad de la fibra del forraje (Mould y Ørskov 1983).

Experimentos realizados posteriormente (Heldt et al., 1999; Arroquy et al., 2004; Kleveshal et al., 2003) sugieren que el efecto asociativo negativo de la suplementación con CNF sobre la utilización del forraje puede ser parcial o totalmente revertido mediante el suministro adecuado de proteína degradable en rumen. A su vez, esto produciría cambios sustanciales en la composición de los ácidos grasos volátiles y el pH de rumen, afectando positivamente el consumo de MS (Heldt et al., 1999a). Coincidentemente, Heldt et al. (1999b) encontraron que la variación en el nivel de consumo de forrajes de baja calidad, depende no sólo del nivel de inclusión y el tipo de CFN suplementario, sino también del aporte proteico a la dieta y fundamentalmente de la interacción entre ellos. Esta respuesta en el consumo, debida a la suplementación, es asociada a cambios en la tasa de pasaje (Kleveshal et al., 2003). Por otra parte, Arroquy et al., (2005), observaron que la extensión de la digestión fue negativamente afectada por la inclusión de CNF, independientemente del pH, y que además la tasa de digestión de la fibra no solo se deprimió con CNF, sino que el grado de depresión dependió del tipo de CNF. Efectivamente, diversos autores indican (Cordes et al., 1988; Garleb et al., 1988) que los carbohidratos compuestos por fibra de alta degradabilidad (i.e.; cascarilla de soja, DDGS, gluten

feed) tienen un efecto menos negativo sobre la digestión de la fibra que los suplementos a base de almidón o azúcares simples.

Sin embargo, hasta el momento no se ha evaluado la influencia de la calidad del agua con elevado contenido de sulfatos sobre la respuesta animal a la suplementación energética y los posibles efectos e interacciones sobre la digestión del forraje consumido. Además, no abundan experimentos donde se haya estudiado el efecto sobre el metabolismo ruminal del azufre debido a posibles alteraciones del ambiente ruminal – cambios en pH o ácidos orgánicos – asociados a la suplementación con granos.

2.2.3. Suplementación energético proteica

La suplementación energético proteica se ofrece para incrementar las tasas de crecimiento o los niveles de producción, sin embargo, el incremento logrado puede ser menor al esperado, de acuerdo al tipo y cantidad de suplemento utilizado (Sanson et al., 1990; Moore et al., 1999).

Los efectos de la suplementación combinada con energía y proteína son variables. Cuando los niveles de suplementación proteica son elevados, aumentar los niveles de energía no tendría mayor efecto sobre el consumo y digestión del forraje de baja calidad. Más allá de esto, cuando se suplementan forrajes de baja calidad con energía y proteína, se logra un aumento del consumo total de materia orgánica digestible. Esta respuesta sobre el consumo voluntario de forraje será afectada por el contenido de TND de los suplementos y el nivel de consumo de FDN de forraje inicial, produciendo las desviaciones entre el resultado esperado y el observado, mencionadas por Moore et al. (1999). Kucseva y Balbuena, (2003) reportan que la respuesta

animal a la suplementación energético-proteica provenientes de subproductos con bajo contenido de lípidos es lineal, es decir proporcional al nivel de suplementación utilizado, cuando se utiliza un nivel inferior al 1,2 a 1,4% del peso vivo.

Se sabe que la transferencia de urea plasmática hacia el rumen mejora con la suplementación energética (Kennedy y Milligan, 1980), por lo que la respuesta al agregado de proteína en la dieta dependerá de la disponibilidad de cantidad de energía fermentable agregada. Los efectos de la suplementación energético proteica sobre aprovechamiento de forrajes de baja calidad, tendrán relación con las proporciones en la que los diferentes suplementos son incluidos en la dieta (DelCurto et al., 2000). Es así que la suplementación energética mejora la captura y utilización de N dietario, por la síntesis bacteriana, mejorando la eficiencia del proceso digestivo (Lapierre y Lobley, 2001).

Por la provisión conjunta de energía y proteína se esperaría una mejora en la eficiencia de fermentación ruminal y por ende en la utilización de alimento y performance animal. Las características de las fuentes de carbohidratos y proteínas modifican la respuesta ruminal favoreciendo o perjudicando la sincronía y alterando así el efecto esperado sobre sustratos específicos (Cabrita et al., 2006). Reynolds y Kristensen (2008) reportaron que la composición de la dieta (disponibilidad de proteína, contenido y composición de la fibra y energía fermentable) tiene influencia sobre transportadores de urea, afectando el reciclaje del N. De esta forma, la excreción urinaria de N, en particular en la forma de N-urea, disminuye al reducir el consumo de N o al aumentar el suministro de energía fermentable a los microorganismos del rumen, sugiriendo que un adecuado balance entre el aporte de proteico y energético de la dieta es el factor clave para mejorar la eficiencia del uso del N a nivel ruminal (Dijkstra et al., 2013).

De modo similar a lo descrito en las secciones anteriores, hasta el momento no se conoce la influencia que la calidad del agua de bebida pueda tener sobre la respuesta animal a la suplementación energético proteica, cuando consumen forrajes de baja calidad.

2.3. Limitaciones generales de agua de bebida de alto tenor salino

El agua, después del oxígeno, es considerado el nutriente más importante para el crecimiento, lactación y reproducción de los rumiantes (NRC 2016). Existe una importante correlación entre el consumo de agua y el consumo de alimento (Utley, et. al., 1970; NRC, 2007) y la calidad del agua de bebida afecta el consumo animal.

El consumo de agua se puede ver afectado ya sea por restricción en el acceso a la misma o por mala calidad del agua (i.e., alta concentración de sales). De modo que el suministro adecuado de agua de buena calidad es fundamental para evitar efectos perjudiciales sobre la salud y productividad animal (Meyer et al., 2004; Kume et al., 2010). El exceso de sales en aguas destinadas a consumo animal, (principalmente cloruros y sulfatos), resulta una limitante para la producción animal en distintas partes del mundo.

Se sabe que la restricción de agua mejora la digestibilidad de los nutrientes, pero perjudica el balance de N, sobre todo de los animales que consumen forrajes de baja calidad (Van der Walt et al., 1999; Ahmed Muna y Shafei Ammar, 2001). En dietas concentradas, la restricción en el consumo de agua, disminuye el consumo de alimento, pero aumenta la retención de N, relacionado a una menor excreción de N en orina. El reciclaje del N se incrementa debido a la restricción de agua de bebida (Utley et al., 1970).

Los requerimientos de agua de los animales están influenciados por factores como, la temperatura y humedad ambiente, calidad nutricional y contenido de materia seca del alimento, características del animal (especie, raza, estado fisiológico, actividad) y la calidad de la fuente de agua disponible para los animales (Murphy et al., 1983; Arias y Mader, 2011).

Es importante conocer el tipo de sales que contiene el agua porque no todas afectan el consumo de igual manera (Tabla 2). Aguas con elevadas concentraciones de sales pueden alterar el rendimiento y/o la salud del animal, ya sea por la disminución consecuente en el consumo de agua y alimento, por la toxicidad de ciertos elementos minerales constituyentes (ej., azufre) y/o por generar deficiencias secundarias de minerales (ej. cobre).

Si bien, está establecido que aguas con niveles de hasta 5000 mg/l de sólidos totales disueltos (STD) y 1000 mg/l como sulfatos (SO_4^-) no afectarían la productividad de los rumiantes (Peirce, 1960; NRC, 2007; NRC, 2016), no se conoce con exactitud los mecanismos fisiológicos por los cuales aguas con elevados tenores salinos reducen el consumo de alimento. La respuesta animal dependerá del tipo predominante de sal disuelta, el volumen de agua consumido por día, la calidad nutricional de la dieta ofrecida, las características climáticas, y el tipo de animal.

En general el ganado bovino tiene preferencia por las aguas de bebida que contienen ciertos niveles de sales (Weeth et al., 1960; Lardner, et al 2013), sin embargo, la reducción en el consumo a niveles crecientes de sales en el agua de bebida es mayor en bovinos que en ovinos, indicando una mayor tolerancia de estos últimos a aguas salobres (Wilson, 1966; Masters et al., 2007).

Tabla 2. Efecto del tipo y cantidad de sales sobre el consumo de agua, consumo de MS y ganancia diaria de peso (GDP) (13 Experimentos).

Referencia bibliográfica	Tipo animal	Dieta ¹		Sales ²	Tipo de agua		Unidad	Consumo		GDP	
		F	C		STD ³	SO ₄ ⁼		Agua	MS		
		%						Kg/d	kg/d	Kg/d	
Weeth et al., 1960	Vaquillonas			NaCl	0		%	23,7	6,8	-	
					1			36,2	6,3	-	
					2			21	3	-	
Peirce, A.W., 1960	Ovejas	100			LL	0			2,3	1,1	-
					NaCl	1,30		%	3,8	1,1	-
					NaCl: Na ₂ SO ₄	1,32	0,1		3,6	1,095	-
					NaCl: Na ₂ SO ₄	1,34	0,2		4,3	1,095	-
					NaCl: Na ₂ SO ₄	1,35	0,3		4,2	1,1	-
Weeth and Hunter, 1971	Vaquillonas	100	0	NaCl: Na ₂ SO ₄	1,39	0,5		3,7	1,1	-	
				P	0	112	ppm	37	6,76	0,633	
				NaCl	4110			44	6,57	0,733	
				Na ₂ SO ₄	5000			24	4,77	-0,5	
Digesti and Weeth, 1976	Vaquillonas	86	14	P	0	110	mg/L	38,5	7,2	-	
				Na ₂ SO ₄	1250			31,5	7,2	-	
				Na ₂ SO ₄	2500			33,1	7	-	
Loneragan et al., 2001	novillos	24	76		125	64%	mg/L	34,4	9,8	2,16	
					250			35	10,8	2,13	
					500			32	10,3	2,16	
					1000			32,4	9,84	2,12	
					2000			30,1	9,92	2,06	
Patterson et al., 2003	novillos	100	0	Na ₂ SO ₄	1226	441	mg/L	56,8	9,43	0,81	
					2933	1725		50,8	9,35	0,75	
					4720	2919		45,3	8,59	0,67	
					7268	4654		36	5,99	0,28	

Tabla 2: Continúa

Patterson y Johnson, 2003	novillos	100	0	Na ₂ SO ₄	1000	400	Ppm	47,3	7,9	0,63
					4800	3100		41,2	7,5	0,458
					6200	3900		42	7,6	0,458
Grout et al., 2006	Vaquillonas	100	0	P	0	16	mg/L	42,7	-	-
				Na ₂ SO ₄		1958		38,9	-	-
				MgSO ₄		2012		39,7	-	-
						4060		29,7	-	-
Cammack et al., 2010	novillos	100	0	Na ₂ SO ₄		566	mg/L	50,9	10,13	1,21
						3651		43,6	9,97	1,24
Lardner et al., 2013	novillos	100	0		2620	1435	mg/L	58,1	-	-
					3010	1900		13,9	-	-
					2790	1460		24,7	-	-
López et al., 2014	novillos	100	0				g/kgPV ^{0,75}			
				P	786	240		250	46	-
Yousfi et al., 2016	corderos	60	40	Na ₂ SO ₄	6473	2890	mg/L	156	33	-
				P	760	105		231,5	80,0	63,1
				NaCl	8045	90		433,9	86,5	52,3
				Na ₂ SO ₄	2645	1230		254,5	83,6	44,1
				NaNO ₂	790	95		269,9	90,2	48,0
López et al., 2017	corderos	100	0	P	442	108	mg/L	153	37,9	-
				Na ₂ SO ₄	8358	6363		141	23,9	-

¹ F: Forraje; C: Concentrado

² P: agua de perforación usada como tratamiento control; LL: agua de lluvia usada como tratamiento control

³STD: Solidos totales disueltos

2.3.1. Composición de sales: NaCl vs SO₄⁼

Es importante tener en cuenta que no todas las sales ejercen los mismos efectos, es sabido que los cloruros (i.e.; NaCl, MgCl) son menos nocivos que el sulfato de sodio (Na₂SO₄) y sulfato de magnesio (MgSO₄).

En líneas generales se puede establecer que a medida que aumenta el contenido de sal en el agua se incrementa su consumo, debido a una necesidad del animal de eliminar a través de la orina las sales ingeridas en exceso (Church, 1988). Weeth y Hunter, (1971) reportaron que una concentración de 4.110 mg/l de NaCl incrementó el consumo de agua en un 18%, mientras que una concentración de 5.000 mg/l de Na₂SO₄ lo redujo en un 35%, con respecto a vaquillonas bebiendo agua de buena calidad. La adición de un 1% de NaCl provocó aumentos del consumo de agua del orden del 50%, pero a su vez una caída en la concentración de urea en sangre (Weeth et al, 1960), resultando tóxicos niveles de consumo del 2% de NaCl (Peirce, 1957; Goodwin y Williams, 1986).

La entrada de NaCl al rumen estimula al animal a consumir mayores volúmenes de agua incrementándose la tasa de pasaje líquida disminuyendo el tiempo de residencia del alimento en el rumen (Croom et al., 1982; Amaral et al., 1985; Rundgren et al., 1990), provocando una reducción de la digestibilidad de la MS. Además, el consumo de NaCl disminuye la digestibilidad del N, el NH₃ ruminal, la urea en plasma, y la tasa de excreción de urea (Ergene y Pickering, 1978; Goodwin y Williams, 1986).

La obligación de excretar las sales en exceso y a la vez retener agua para evitar una deshidratación, requiere de una serie de cambios en el funcionamiento renal (Meintjes y Engelbrecht, 2004). Uno de los factores que determina la máxima concentración de sal en el

agua que puede ser tolerada por los animales es su capacidad para alterar la concentración de solutos en orina (Kay, 1997). Por lo tanto, la mayor o menor tolerancia a sales entre especies y en menor grado entre individuos de una misma especie debe la capacidad que tienen para regular la concentración de solutos en orina.

La provisión de azufre suficiente en la dieta, es esencial para la correcta digestibilidad de la materia seca consumida por el ganado y la ganancia de peso, pero en exceso, tiene efectos negativos en la digestión, ganancia de peso diaria y la performance de los rumiantes (Loneragan, et al., 2001). El consumo de azufre, ya sea a través de los alimentos sólidos o por el agua de bebida con sulfatos en exceso, puede generar problemas de la toxicidad (Limin Kung, 2008; Morine et al., 2014a). El consumo elevado de agua con alto tenor de sulfatos, particularmente durante períodos de altas temperaturas, puede proveer cantidades sustanciales de sulfuro (Grout et al., 2006).

Existen varios mecanismos por los cuales el azufre puede afectar la salud y performance animal. Uno de ellos tiene que ver con una interferencia en el metabolismo del cobre, disminuyendo la disponibilidad de este mineral, producto de la reducción del azufre a nivel ruminal. La forma inorgánica de azufre (SO_4^-) afecta de manera más directa la salud animal, ya que rápidamente se combina el rumen con los iones H^+ para crear el gas sulfuro de hidrogeno (H_2S ; Knight et al., 2008). El exceso de SO_4^- en rumen y la acumulación de sulfuro de hidrógeno, gas tóxico que en grandes cantidades deprime la motilidad ruminal (Bird, 1972; Kandylis, 1984; Gould, 1998) con una consecuente reducción del consumo (Loneragan y col., 2001; Uwituze y col., 2011; Drewnoski y Hansen, 2013).

El exceso en el consumo de sulfatos se manifiesta en su forma clínica como polioencefalomalacia (PEM). Los signos clínicos de PEM incluyen deterioro de la visión, disminución de la respuesta ante amenazas, posteriormente temblores, ceguera, hasta desencadenar en la muerte del animal (Loneragan et al., 1998). La PEM es un desorden neurológico asociado a la producción ruminal del gas sulfuro de hidrógeno, desencadenado por un elevado consumo de azufre (Loneragan et al., 1998; Gould, 1998). La producción de sulfuro de hidrógeno ruminal, al ser inhalado, interfiere en la respiración celular (Gould, 1998; Krasicka et al., 1999; Crawford, 2007; Coria et al., 2007), desencadenando graves problemas metabólicos, y afectando la salud animal. La inhalación del H₂S, causa una interrupción en el metabolismo energético de las células cerebrales, provocando lesiones necróticas en la corteza cerebral, típicas de la PEM (Patterson et al., 2003; Cammack et al., 2010). Por su parte, los animales afectados por PEM en niveles subclínicos, reducen el consumo de alimento y agua, permaneciendo letárgicos (Gould, 2000).

La producción de H₂S aumenta, al incrementarse la concentración de lactato y cuando el pH ruminal es bajo, permitiendo que se produzca la reducción de sulfuro a H₂S (Richter, 2011; (Figura 1). El ingreso de elevadas concentraciones de sales en el rumen incrementa el consumo de agua, disminuyendo el tiempo de residencia del alimento. A la inversa, menores consumos de agua aumentan la digestibilidad del alimento debido en este caso a un mayor tiempo de retención de la fibra en el rumen (Asplund y Pfandes, 1972; Ray, 1989). Por lo tanto, aguas con elevados niveles de sulfatos podrían incrementar los tiempos de retención en el rumen como consecuencia de un menor consumo de agua y/o motilidad ruminal (Bird, 1972; Kandyliis, 1984; Loneragan et al., 2001; Grout et al., 2006; Drewnoski et al., 2014).

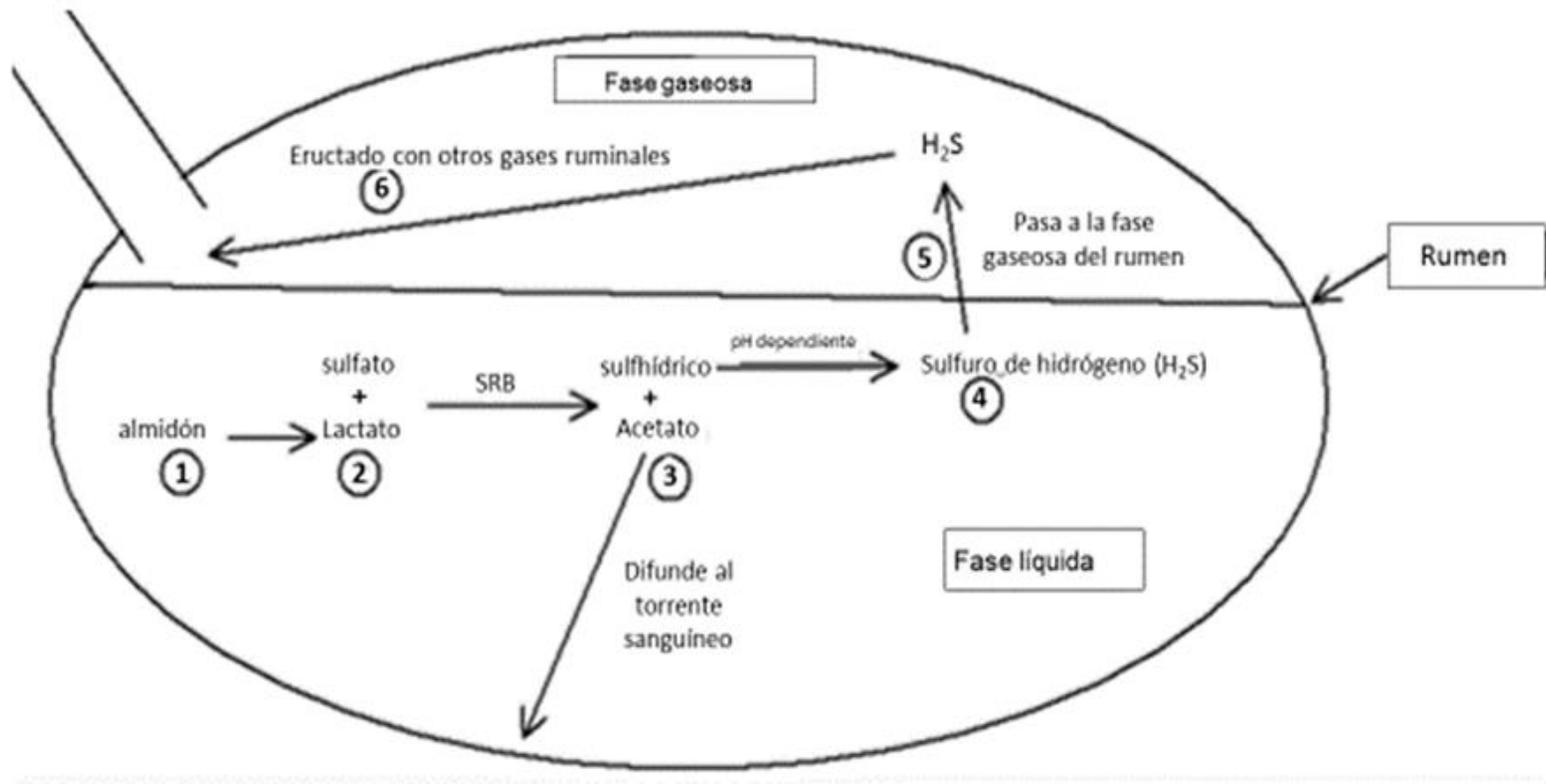


Figura 1. Esquema del mecanismo de producción de H₂S en el rumen. 1) El almidón ingresa al rumen como parte de una dieta con alto contenido de concentrado, el almidón se metaboliza y se acumula lactato. 2) Las bacterias sulfuro-reductoras (SRB) utilizan el lactato u otros donantes de carbono junto con el sulfato para la reducción del sulfato. 3) La reducción de sulfato da como resultado la producción de acetato y sulfuro, el acetato luego se difunde en el torrente sanguíneo y es utilizado por los tejidos animales. 4) El sulfuro luego se combina con los iones de hidrógeno para formar sulfuro de hidrógeno en un proceso dependiente del pH. 5) El sulfuro de hidrógeno luego cambia de fase y entra en la fase gaseosa del rumen. 6) El sulfuro de hidrógeno finalmente se eructa con otros gases del rumen (Adaptado de Ritcher, 2011).

Diversos trabajos indican que la ingesta de altas cantidades de sulfatos (i.e., 1000 – 4000 mg/L NaSO₄), reducen tanto el consumo de agua como de alimento (Weeth and Hunter, 1971; Weeth y Capps, 1972; Grout et al., 2006), teniendo efectos negativos sobre la digestión y la performance animal. De todas formas, concentraciones de sulfato hasta 2.500 mg/l en el agua de bebida serían toleradas por el ganado, sin efectos significativos adversos sobre el consumo (Digesti y Weeth, 1976). La forma en que los sulfatos afectan el consumo de alimento no están del todo clara. Sin embargo, el nivel de afectación dependerá de la especie animal (Wilson, 1966; Yirga, et al., 2018), época del año y ambiente térmico (McAllister et al., 1997) de la concentración en agua y alimento (Wilson y Dudzinski, 1973; Cunha, et al., 2011).

El grado de acostumbramiento o exposición previa (Tjardes, et al., 2004) también puede afectar la tolerancia a sulfatos. Grout et al. (2006) menciona que los niveles de tolerancia y aceptación animal variarán según se trate de sulfato de Na o de Mg. Una de las posibles razones del menor consumo de aguas sulfatadas es su menor palatabilidad, ya que poseen un fuerte sabor amargo (MgSO₄ > Na₂SO₄ > NaCl).

Por otro lado, en un estudio recientemente realizado con novillos bebiendo agua con elevados tenores salinos (i.e. 6473 mg/L STD; 2890 mg/L SO₄⁼), se observó que mayores relaciones PDR/TND fueron necesarias para maximizar la utilización del heno de Gatton panic (7% PB; *Megathyrus maximus* cv. Gatton) sugiriendo que la calidad del agua puede alterar los requerimientos de PDR para maximizar el uso de forrajes de mala calidad (López et al., 2014). Estos resultados reafirman lo observado en trabajos previos que indican que el suministro de aguas de bebida con elevados contenidos salinos profundiza el déficit ruminal de NH₃ en animales consumiendo forrajes de baja calidad, demandando mayores niveles de

suplementación proteica para lograr la misma eficiencia de utilización del forraje y el N que animales que beben aguas con bajos tenores salinos. En un trabajo posterior, realizado por este grupo (Lopez et al., 2017) se confirma que el consumo de agua de mala calidad deprime el uso de forrajes de baja calidad en corderos, pero ese efecto se puede revertir con la suplementación proteica. Por otra parte, en este mismo estudio, observaron un incremento en la concentración ruminal de gas H₂S en respuesta a la suplementación proteica. La producción de H₂S se incrementó cuando la suplementación con harina de soja fue mayor del 0,2% PV (López et al., 2017).

2.3.2. Aguas con sulfatos y suplementación energético- proteica

Al evaluar estrategias de suplementación energético- proteicas, en animales consumiendo aguas con concentraciones elevadas de sulfatos, se plantea un inconveniente adicional, que es aumentar el riesgo toxicidad subclínica y/o clínica por azufre por el consumo combinado de concentrados con sulfatos. Granos destilados o co-productos de la producción de etanol, son alimentos ricos en proteína y energía, sin embargo, el elevado contenido de azufre de su composición, limita su inclusión en dietas para rumiantes, por las posibles alteraciones en la digestión del alimento y el potencial riesgo de generar PEM (Uwituzze, et al., 2011; Drewnoski y Hansen 2013; Nichols et al., 2013).

Por su parte, la suplementación energética, según el nivel de suplementación puede afectar negativamente el consumo y digestión del forraje (Sanson et al., 1990; Bowman y Sanson, 1996; Garcés-Yépez et al., 1997) asociado con cambios en el ambiente ruminal como la reducción del pH y acumulación de ácido láctico (Mould y Ørskov 1983). Se conoce que la producción del gas H₂S está asociada al pH ruminal, a pH bajos la producción de este gas aumenta, mientras que

a pH neutro o alcalino la producción de H₂S se ve inhibida (Gould, 1998). Paralelamente, debido a que la vía metabólica de producción de H₂S ruminal tiene como precursor para la formación del gas la presencia de ácido láctico (Richter, 2011), la aparición de este ácido en respuesta a altos niveles de suplementación energética podría favorecer la síntesis de H₂S.

Por otro lado, el forraje aporta azufre a la dieta de manera proporcional al contenido de este mineral en los suelos en los que se desarrolla, variando el contenido con la localización geográfica (Richter, 2011). Cunha et al. (2011), encontraron que bovinos índicos (*i.e.*, *Bos taurus*) alimentados únicamente con heno de gramíneas tropicales alcanzaron niveles de concentración ruminal de H₂S, por encima de los umbrales considerados normales por Gould et al. (1998), aunque sin manifestaciones clínicas de PEM.

Por lo tanto, esto lleva a pensar que la ocurrencia de PEM esté más asociada a dietas de elevada concentración energética, que, en el caso del consumo de aguas con elevado contenido de azufre, sería aún más favorecido.

Surge entonces la inquietud de evaluar cuáles son los niveles de inclusión de suplementos energéticos que generen un buen nivel de producción individual, pero a la vez no incrementen los riesgos de generar PEM. Por esta razón, generar estrategias de alimentación y suplementación para mejorar el uso de los recursos forrajeros de baja calidad, teniendo en cuenta la calidad del agua, son de considerable importancia en estos planteos.

CAPITULO II:

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



1. HIPÓTESIS

En base a los antecedentes bibliográficos se deriva la siguiente hipótesis de trabajo: El aumento del nivel de suplementación energética y proteica de forrajes de baja calidad, en ovinos bebiendo aguas con elevado tenor de sulfatos, mejorará el consumo total de alimento y el balance de N.

2. OBJETIVO GENERAL

Para responder a la hipótesis de estudio se planteó el siguiente objetivo:

Evaluar el efecto del nivel de la suplementación energética y proteica, sobre la utilización del forraje de baja calidad, la digestibilidad, el balance de nitrógeno y la producción ruminal de sulfuro de hidrógeno gaseoso, en ovinos bebiendo agua con elevado tenor de sulfatos.

CAPITULO III:

MATERIALES Y MÉTODOS



MATERIALES Y MÉTODOS

El manejo de los animales experimentales se realizó de acuerdo al protocolo institucional aprobado por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA, 2013) para el uso y cuidado de animales experimentales.

1.1. Ubicación geográfica

El ensayo se desarrolló en dependencias del Campo Experimental “Francisco Cantos” de la Estación Experimental Agropecuaria Santiago del Estero de Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, ubicado en la localidad de La Abrita (28°01'00" LS; 64°13'00" LW).

1.2. Diseño experimental

Se utilizaron dieciocho (18) borregos Hampshire Down ($29,2 \pm 3,6$ kg PV) en un diseño cuadrado latino incompleto de dos períodos. Los animales fueron inicialmente pesados y colocados en jaulas metabólicas individuales con libre acceso a agua y alimento. Las jaulas se ubicaron de forma que los animales tuvieran la posibilidad de establecer contacto visual, auditivo y olfativo con sus congéneres, dentro de un galpón con tres aberturas amplias que permitieron la correcta ventilación y limpieza del mismo.

La estructura de los tratamientos fue un factorial 3×2 , resultado de la combinación de 3 niveles de suplementación energética suministrado como grano de maíz (SE; 0, 0,5 y 1,0% PV;) y 2 niveles de suplementación proteica suministrado como harina de soja (SP; 0 y 0,75% PV). Los animales fueron alimentados *ad libitum* con heno de Gatton panic (*Megathyrus maximus* var. Gatton panic) en estado avanzado de madurez (Tabla 3).

La única fuente de agua ofrecida fue una solución de elevado tenor salino, elaborada agregando sulfato de sodio (Na_2SO_4) a una fuente agua de bajo tenor salino, hasta lograr la concentración objetivo de al menos 7000 mg/l (Tabla 4).

Tabla 3. Composición química del heno (*Megathyrus maximus*, var. Gatton panic) y suplementos.

Ingrediente	Heno	Grano de maíz	Harina de soja
% MS			
MS	85,3	83,7	83,5
MO	88,2	96,5	93,2
PB	5,3	10,5	41,5
FDN	81,9	23,1	17,1
FDA	53,0	3,4	8,6
CENIZAS	11,8	3,5	6,8

MS: materia seca. MO: materia orgánica. PB: proteína bruta. FDN: Fibra detergente Neutra. FDA: Fibra detergente ácida.

Tabla 4. Sólidos totales disueltos, pH, y composición mineral (mg/L) del agua suministrada.

STD ¹	7947	pH	7,38
Aniones		Cationes	
Calcio	52,5	Bicarbonatos	178
Magnesio	15,5	Cloruros	68,5
Sodio	1941	Sulfatos	4430
Flúor	0,50	Arsénico	0,013

¹STD: Sólidos Totales Disueltos

El ensayo tuvo una duración total de 42 d dividido en 2 períodos de 21 d cada uno. En cada período, los primeros 15 d se destinaron para la adaptación de los animales a los distintos tratamientos, y desde el d 16 al 20 para evaluar consumo de agua y alimento, digestión y balance de nitrógeno (N). Durante los días 19 y 20 se realizó la toma de muestras para la determinación del gas sulfuro de hidrógeno (H₂S). Al finalizar el período 1, todos los corderos fueron ubicados de manera grupal en parcelas de alimentación a pastoreo, para iniciar un período de descanso de 10 d de duración, en el cual no recibieron ningún tipo de tratamiento de alimentación. Al finalizar el segundo período de ensayo, los animales fueron liberados a campo en parcelas de pastoreo.

1.3. Alimentación y muestreo

Diariamente, a las 7:00 am se ofreció el suplemento correspondiente a cada tratamiento. Luego de su consumo total, transcurrido un periodo de 30 minutos, se suministró el heno de Gatton panic, al 130% del consumo voluntario. El consumo voluntario se calculó como el consumo promedio de tres días consecutivos considerando la presencia de remanente del día anterior. Para cubrir los requerimientos de minerales establecidos según el NRC (2007) se proporcionó a cada cordero 9 g de un núcleo mineral compuesto por calcio 27,67%, sodio 9,26%, magnesio 0,62%, fósforo 0,31%, zinc 2592,5 ppm, manganeso 2037,0 ppm, cobre 555,5 ppm, yodo 30,8 ppm, selenio 18,5 ppm, cobalto 6,17 ppm y monensina 0,22%; suministrado de manera mezclada con el heno para asegurar su consumo.

Los bebederos se completaron hasta el máximo de su capacidad (4 L) con la solución salina a las 9:00 am y a las 14:00 pm, evaluando el consumo diario de agua por el diferencial de peso entre lo ofertado y lo remanente.

1.4. Determinaciones

Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Forrajes y Pasturas del INTA EEA Santiago del Estero, en donde se procesaron las muestras para la determinación de digestibilidad de materia seca y cuantificación de gases.

Para la composición del agua de bebida se realizó un análisis físico - químico en laboratorio de análisis del Ministerio del Agua y Medio Ambiente de la provincia de Santiago del Estero.

Se tomaron registros de temperaturas máximas y mínimas diarias utilizando un termómetro de máximas y mínimas colocado dentro del galpón donde se alojaban los animales, así como también la temperatura del ambiente registrada en la estación meteorológica convencional ubicada en el predio del campo experimental.

1.4.1. Determinaciones de composición de alimentos

Diariamente se tomaron muestras de forraje ofertado y remanente de cada animal, de los suplementos suministrados, y de las heces, para realizar las determinaciones de MS, FDN, FDA, PB y MO. Las muestras fueron secadas parcialmente en estufa de aire forzado (96 h a 55 °C) para la determinación MS, mediante el método gravimétrico según AOAC (1980). Luego fueron molidas (Molino Willey Mill, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ) a través de una malla de 1 mm. Posteriormente, una submuestra de las muestras parcialmente secadas y molidas se secaron por 24 h a 105 °C para determinar MS y posteriormente se incineraron por 3 h a 600 °C para la determinación de ceniza. Las muestras del alimento y los remanentes fueron compuestas entre días dentro de cada tratamiento, para cada período. En todas las muestras se analizó FDN y FDA con el ANKOM®-Fiber Analyzer 200 (ANKOM Technology, Fairport, NY, USA) usando el

procedimiento descrito por Van Soest y col. (1991). Se utilizó sulfito de sodio en los análisis de FDN. Los valores de FDN y FDA reportados contienen cenizas residuales. A las muestras de alimento, heces y orina se les determinó N total de acuerdo al procedimiento Kjeldahl (AOAC, 1990) y se calculó el contenido de proteína cruda multiplicando por el factor 6,25.

Se tomaron muestras de agua a lo largo de cada período del ensayo con lo que se constituyó una muestra compuesta para el análisis físico- químico de la solución salina.

1.4.2. Determinación de Consumo, Digestibilidad y balance de N

Para evaluar el consumo diario de alimento, durante los d 16 al 20 de cada período se pesó el total ofertado y el total del remanente, y se recolectaron muestras del alimento ofertado y remanente calculando por diferencia el consumo diario por animal. Del mismo modo se procedió con la oferta y rechazo de agua, para estimar el consumo diario por animal.

Para la determinación de la digestibilidad aparente durante los d 16 al 20 de cada período, previo al momento de alimentación, se pesó la producción total diaria de heces y se recolectó una alícuota del 10% de la producción diaria de cada animal. Una muestra compuesta de heces de cada animal y período animal fue retenida y conservada a -20°C hasta el momento de análisis. La digestibilidad aparente se calculó a partir del consumo de alimento y la producción total de heces, mediante la siguiente fórmula: $DMOT = CMOT - MO \text{ heces} / CMOT$, mientras que el consumo de N y el N excretado a través de la orina y heces, fue usado para el cálculo del balance N, mediante la siguiente fórmula: $\text{Balance} = \text{Consumo N} - \text{N heces} - \text{N orina}$.

1.4.3. Determinaciones en orina

La producción diaria de orina fue recolectada en su totalidad en recipientes colocados bajo la malla inferior de la jaula metabólica. Los recipientes estaban provistos de suficiente HCl 1,25 N para mantener valores de pH inferiores a 3, minimizando las pérdidas de N por volatilización entre los momentos de recolección. El agregado de HCl se realizó considerando el volumen de producción de orina de cada animal.

Diariamente, entre los d 16 al 20 de cada período se tomó una alícuota del 5% de la producción total diaria de orina, a la cual se midió el pH para verificar que se encontraba por debajo de 3 y se descartó el excedente. Las muestras compuestas de orina de cada animal y período fueron almacenadas en freezer a -20 °C hasta su análisis en laboratorio. Los valores de pH se midieron utilizando un pH-metro portátil (Oakton, Vernon Hills, IL EUA).

Las muestras de orina fueron utilizadas para realizar la determinación de N total (Kjeldahl), utilizado para realizar el balance de N y la concentración de urea urinaria se determinó mediante un kit de método enzimático (GT Lab, Rosario, Argentina), empleando un espectrofotómetro (Metrolab 330, Metrolab UV Vis, Bs. As., Argentina).

1.4.4. Determinación de sulfuro de hidrógeno

Para la determinación de sulfuro de hidrógeno ruminal, se siguió el procedimiento utilizado por Gould y col. (1997), excepto que la muestra se obtuvo con jeringa de 10 ml (duplicado) mediante punción ruminal. Para evitar cambios en el comportamiento ingestivo de los animales y disminuir el estrés, las punciones se realizaron el d 19, a las 0 y 8 h pos alimentación y el d 20, a las 4 y 12 horas post alimentación de cada período del ensayo.

Para la extracción del gas ruminal se utilizaron jeringas de 10 ml de capacidad y una vez obtenido fue trasvasado a tubos vacutainer conteniendo agua alcalina (pH > 8). El análisis en el laboratorio se realizó dentro de las 6 h posteriores a la recolección.

Las concentraciones de H₂S se determinaron por espectrofotometría utilizando un espectrofotómetro (Cole Parmer 1200, Vernon Hills, IL EUA) siguiendo el procedimiento propuesto por Leibovich et al. (2009).

El contenido de azufre en el agua se determinó mediante análisis químico de muestra de agua compuesta, a partir de la determinación del contenido de SO₄⁼, considerando un 33,3% de S en su composición. Para el cálculo de consumo de S a partir de los alimentos, se consideraron valores del NRC (2016).

1.5. Análisis estadísticos

Las variables, consumo y digestibilidad, fueron analizadas utilizando la opción de modelos mixtos de Infostat (2016) vinculado con R, según el siguiente modelo:

$$y_{ijkl} = \mu + p_i + s_j + r_k + c_l + (rc)_{kl} + \epsilon_{ijkl}$$

donde: y_{ijkl} es la respuesta del período i , del cordero j , al nivel de suplementación energética con grano de maíz (SE) k , y al nivel de suplementación proteica con harina de soja (SP) l , μ es la media general, p_i es el efecto fijo del período i , s_j es el efecto aleatorio del cordero anidado en SE j , r_k es el efecto fijo del nivel de SE k , c_l es el efecto fijo del nivel de SP, $(rc)_{kl}$ es el efecto fijo de la interacción entre el nivel de SE k y SP, y ϵ_{ijkl} es el error aleatorio.

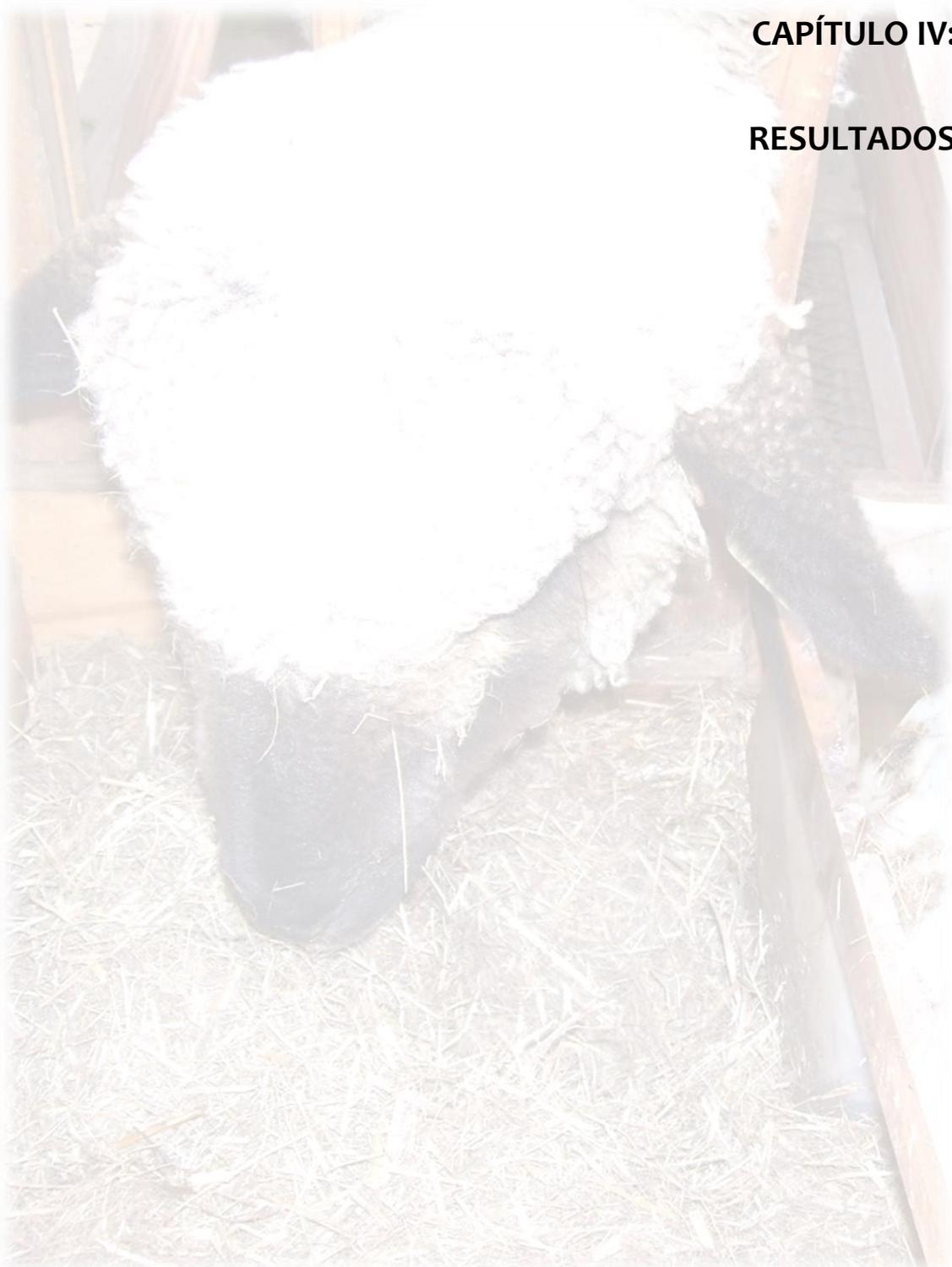
Los valores de concentración de H₂S se analizaron como medidas repetidas en el tiempo, utilizando una matriz de covarianza auto-regresiva de orden 1, según el procedimiento de

modelos mixtos de Infostat (2016) vinculado con R. En ese caso el modelo estadístico utilizado fue:

$$y_{ijklz} = \mu + p_i + s_j + r_k + c_l + t_z + (rc)_{kl} + (rt)_{kz} + (ct)_{lz} + (rct)_{klz} + \epsilon_{ijklz}$$

donde: y_{ijklz} es la respuesta del período i , del cordero j , al nivel de suplementación con grano de maíz SE k y al nivel de suplementación con harina de soja SP l , μ es la media general, p_i es el efecto fijo del período i , s_j es el efecto aleatorio del cordero anidado en GM j , r_k es el efecto fijo del efecto de nivel de SE k , c_l es el efecto fijo del efecto de nivel de SP l , t_z es el efecto fijo del tiempo, $(rc)_{kl}$ es el efecto fijo de la interacción entre el nivel de SE k y el nivel de SP l , $(rt)_{kz}$ es el efecto fijo de la interacción entre el nivel de SE k con el tiempo z , $(ct)_{lz}$ es el efecto fijo de la interacción entre el nivel de SP l y el tiempo z , $(rct)_{klz}$ es el efecto fijo de la interacción entre el nivel de SE k , el nivel de SP l y el tiempo z , y ϵ_{ijklz} es el error aleatorio.

Se realizaron contrastes ortogonales (lineales y cuadráticos) para cuadráticos para el efecto principal suplementación con grano de maíz. Las medias de los tratamientos fueron comparadas usando el test de Fisher, y declaradas diferentes a un $P < 0,05$ o con tendencia a ser diferentes con un P entre $0,05$ y $0,10$.



CAPÍTULO IV:

RESULTADOS

RESULTADOS

1.1. Consumo de alimento y agua

La interacción suplementación proteica × suplementación energética (SE × SP) no afectó significativamente ninguna de las variables de consumo de agua y alimento ($P > 0,31$) evaluadas (Tabla 5). El consumo el consumo de agua (CA) fue mayor en los animales que recibieron SP ($P < 0,01$). El consumo de forraje (MOF, $P = 0,04$) disminuyó con la SP, mientras que consumo de MO total (MOT), el consumo de PB (CPB), el consumo de MO total digestible (MOTD) y PB digestible (PBD) aumentaron en respuesta a la SP ($P < 0,01$). En cambio, el consumo de FDN (CFDN; $P = 0,30$), de FDA (CFDA; $P = 0,27$) y el consumo de FDND ($P = 0,86$) y DFAD ($P = 0,94$) no fueron afectados por SP. El CPB y el PBD se incrementó 2,7 y 5,3 veces en respuesta a la suplementación proteica, respectivamente.

Por su parte, la SE aumentó de manera cuadrática el MOT ($P = < 0,01$), el CPB ($P = 0,04$), el MOTD ($P = 0,01$) y el PBD ($P = 0,02$; Tabla 3). El CA tendió a aumentar linealmente en respuesta a la SE ($P = 0,10$). El MOF mostró una tendencia ($P = 0,08$) cuadrática de aumento con la SE. El CFDN ($P = 0,03$), CFDA ($P = 0,03$), FDND ($P = 0,02$) y FDAD ($P = 0,02$) aumentaron de manera cuadrática en respuesta a la suplementación con grano de maíz (Tabla 5). Los corderos consumieron la totalidad de los suplementos suministrados (nivel de consumo igual al % PV ofrecido), por lo que no se reportan el consumo de MO de cada uno de los ingredientes de los tratamientos.

Tabla 5. Valores promedio y error estándar de la media (EEM) del consumo de agua y alimentos en corderos alimentados con heno, suplementados con diferentes niveles de energía y de proteína y bebiendo agua de alto tenor de sulfatos.

	SE	P valor						EEM	SE ^A		SP ^B	SExSP
		SP 0%			SP 0,75%				Lineal	cuadrático		
		0	0,5	1	0	0,5	1					
Consumo de agua ^C , ml/kgPV ^{0,75}												
CA	108,6	129,4	134,7	145,2	173,3	170,3	10,11	0,05	0,30	<0,01	0,79	
Consumo ^D , g/kgPV ^{0,75}												
MOF	37,9	41,3	36,9	31,8	41,0	28,8	3,15	0,58	0,03	0,04	0,34	
MOT	37,9	50,8	55,9	44,8	63,3	60,9	3,03	<0,01	0,03	<0,01	0,32	
CPB	2,3	3,5	4,2	7,8	9,5	9,8	0,16	<0,01	0,04	<0,01	0,31	
CFDN	34,6	40,1	38,5	31,6	41,8	33,4	2,84	0,39	0,03	0,30	0,39	
CFDA	21,8	24,1	22,0	19,9	25,2	18,5	1,83	0,78	0,03	0,27	0,34	
Consumo nutrientes digestible ^E , g/kgPV ^{0,75}												
MOTD	18,4	27,5	32,6	25,6	41,0	41,9	1,74	<0,01	0,01	<0,01	0,18	
PBD	0,5	1,4	2,0	5,9	7,2	7,7	0,13	<0,01	0,02	<0,01	0,17	
FDND	18,68	20,4	19,1	15,7	23,4	18,3	1,73	0,39	0,02	0,86	0,24	
FDAD	10,62	10,3	8,5	8,8	12,6	8,2	1,06	0,22	0,02	0,94	0,19	

^A SE: suplementación energética con maíz

^B SP: suplementación proteica con harina de soja

^C CA: Consumo de agua por unidad de peso metabólico

^D MOF: consumo MO forraje; MOT: consumo MO total; CPB: consumo de PB; CFDN: consumo FDN; CFDA: consumo FDA.

^E MOTD: consumo MO total digestible; PBD: consumo PB digestible; FDND: consumo de FDN digestible; FDAD: consumo FDA digestible.

1.2. Digestibilidad

La interacción SE × SP afectó significativamente ($P < 0,05$) todas las variables de digestibilidad evaluadas, excepto la digestibilidad de la MO total (DMOT; $P = 0,69$). La DMOT aumentó significativamente en respuesta a la SP ($P < 0,01$) y siendo mayor en los corderos que recibieron los niveles más altos de SE ($P < 0,01$; Lineal; Tabla 6). En los tratamientos sin suplementación proteica la DFDN disminuyó ($P = 0,02$) con el incremento de la SE, mientras que fue mayor en los tratamientos con SP combinados con 0,5 y 1% de SE que cuando fue combinada con 0% SE. Un patrón de respuesta similar presentó la DFDA ($P = 0,03$). En tanto, la DPB aumentó linealmente en respuesta a la suplementación energética ($P < 0,01$).

Tabla 6. Valores promedio y error estándar de la media (EEM) de la digestibilidad del alimento en corderos alimentados con heno, suplementados con diferentes niveles de energía y de proteína y bebiendo agua de alto tenor de sulfatos.

	SE	P valor						EEM	P valor			
		SP 0%			SP 0,75%				SE ^A		SP ^B	SExSP
		0	0,5	1	0	0,5	1		Lineal	Cuad.		
		-----g/kg-----										
DMOT ^C		487,3	539,8	583,2	575,0	646,2	692,7	13,41	<0,01	0,48	<0,01	0,69
DPB		213,2	397,8	475,3	749,8	766,3	785,5	21,98	<0,01	0,19	<0,01	<0,01
DFDN		540,0	507,2	491,5	492,2	560,2	553,5	18,63	0,74	0,39	0,16	0,02
DFDA		486,8	425,3	377,2	441,0	495,5	451,2	22,91	0,05	0,30	0,10	0,03

^A SE: suplementación energética con maíz

^B SP: suplementación proteica con harina de soja

^C DMOT: Digestibilidad de la MO total; DPB: Digestibilidad de la PB; DFDN: Digestibilidad de la FDN; DFDA: Digestibilidad de la FDA

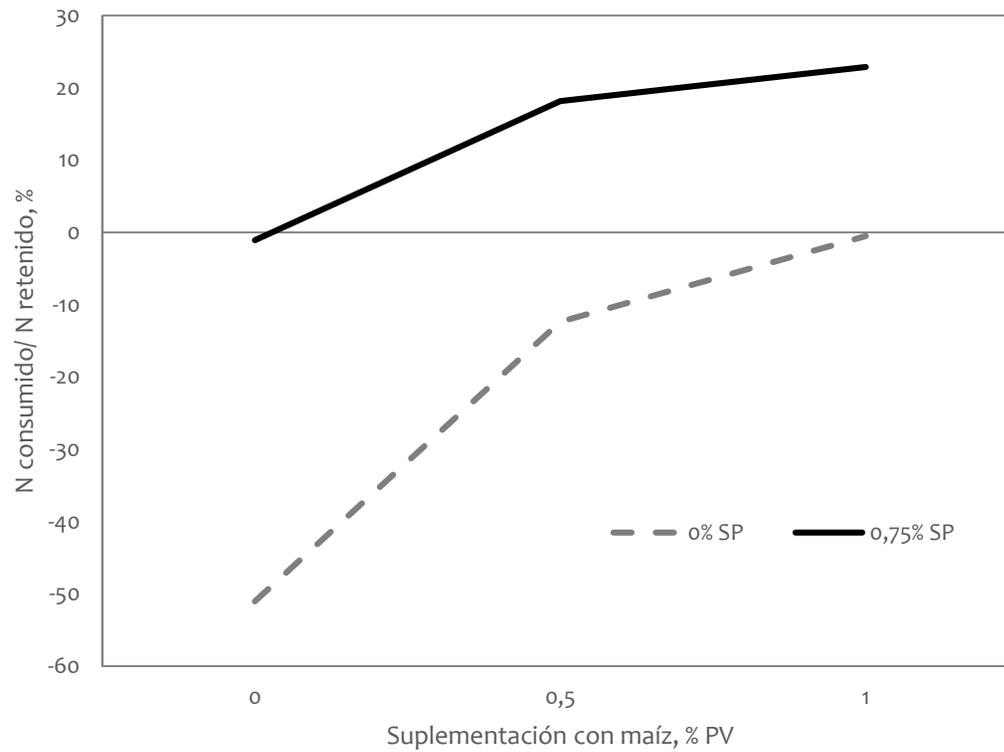
1.3. Uso del nitrógeno

La interacción SE × SP afectó significativamente el balance de N ($P = 0,04$) y la retención de N como porcentaje del total del N consumido (N consumido/ N retenido; $P = 0,02$). La retención de N como porcentaje del N total consumido, fue mayor en los tratamientos con SP y en los niveles 0,5 y 1% SE. En los tratamientos sin SP no se observó retención de N en ninguna de las combinaciones con SE (Figura 2), solo en 1% SE el balance fue cercano a cero (0,03 g/d).

Es importante notar que el balance de N fue positivo únicamente en los tratamientos SP para los niveles 0,5 y 1% de SE (3,38 y 4,79 respectivamente). En los niveles 0 y 0,5 % de SE el balance fue negativo en los tratamientos sin SP, así como también en el tratamiento con SP en el nivel 0% SE (Tabla 7).

El consumo de N fue significativamente afectado por la SP ($P < 0,01$) siendo mayor en el nivel 0,75% y por la SE ($P < 0,01$), siendo más alto el consumo de N en los niveles de mayor inclusión de SE. Los tratamientos no afectaron los niveles de excreción de N en heces. La excreción de N en orina aumentó ($P < 0,01$) con la SP.

El volumen de orina total producido (VOT) no fue afectado por la interacción entre los tratamientos (SE × SP), aumentando significativamente con la SP ($P < 0,01$). Por su parte, el volumen total de urea urinaria (VTUU), la concentración de urea urinaria (CUU) y el N ureico de la orina fueron significativamente mayores en los tratamientos con SP ($P < 0,01$; Tabla 8). La SE no afectó la excreción diaria, ni las variables de producción y concentración de urea en orina ($P > 0,05$).



Efectos de tratamientos

Uso del N

SP: $P < 0,01$
 SE
 Lineal: $P = < 0,01$
 Cuadrático: $P = 0.01$
 SP \times SE: $P = 0,02$
 EEM: 4,13

Figura 2. Eficiencia de uso del N (g N consumido /kg de N retenido) de corderos sin suplementación proteica (0%PV) y con suplementación proteica (0,75% PV) para tres niveles de suplementación energética (0; 0,5 y 1% de peso vivo; %PV).

Tabla 7: Valores promedio y error estándar de la media (EEM) del uso y balance de Nitrógeno en corderos alimentados con heno, suplementados con diferentes niveles de energía y de proteína y bebiendo agua de alto tenor de sulfatos.

	SP						EEM	P valor			
	SP 0%			SP 0,75%				SE ^A		SP ^B	SExSP
	0	0,5	1	0	0,5	1		Lineal	Cuad.		
	-----g/d-----										
Consumo N ^C	4,50	6,83	8,99	15,60	18,20	19,93	0,64	<0,01	0,72	<0,01	0,85
N heces	3,53	4,19	4,75	3,93	4,23	4,60	0,39	0,06	0,98	0,69	0,65
N orina	3,17	3,50	4,21	11,77	10,58	11,70	0,60	0,50	0,29	<0,01	0,30
Balance	-2,19	-0,85	0,03	-0,09	3,38	4,79	0,51	<0,01	0,17	<0,01	0,04

^A SE: suplementación energética con maíz

^B SP: suplementación proteica con harina de soja

^C Consumo N: consumo de Nitrógeno; N heces: excreción de N en heces; N orina: excreción de N en orina; Balance: balance de N.

Tabla 8. Valores promedio y error estándar de la media (EEM) de la producción y concentración de urea en orina de corderos alimentados con heno, suplementados con diferentes niveles de energía y de proteína y bebiendo agua de alto tenor de sulfatos.

	SP						EEM	P valor			
	SP 0%			SP 0,75%				SE ^A		SP ^B	SExSP
	0	0,5	1	0	0,5	1		Lineal	Cuad.		
VOTg/kg PV ^{0,75}	39,34	45,35	47,67	64,22	63,60	63,14	5,49	0,63	0,88	<0,01	0,21
VTUU g/d	4,63	4,51	5,37	19,75	17,40	20,35	1,10	0,60	0,16	<0,01	0,42
CUU mg/ml	11,66	8,89	10,76	25,52	23,85	25,38	1,88	0,82	0,33	<0,01	0,90
N urea g/d	2,13	2,07	2,47	9,09	8,01	9,36	0,51	0,60	0,60	<0,01	0,42

^A SE: suplementación energética con maíz

^B SP: suplementación proteica con harina de soja

VOT: volumen de orina total producido; VTUU: volumen total de urea urinaria; CUU: concentración de urea urinaria; N urea: N ureico.

1.4. Consumo de azufre y producción de sulfuro de hidrógeno ruminal

El consumo de azufre en agua (CSA) y total (CST) no fueron afectados por la interacción entre los tratamientos ($P > 0,25$; Tabla 9). El CSA se incrementó con la incorporación de suplementación proteica ($P < 0,01$) y el CST fue mayor en el tratamiento que incluyó suplementación proteica ($P < 0,01$) y suplementación energética (Lineal; $P = 0,02$).

Los resultados obtenidos mostraron que la interacción entre los niveles de SE y SP tendió a modificar la concentración ruminal de gas sulfuro de hidrógeno (H_2S ; $P = 0,09$).

Se observó un efecto de la hora ($P < 0,01$) en la concentración ruminal de gas H_2S , siendo mayor a las 8 h posteriores a la alimentación para todos los tratamientos (Figura 3). Sin embargo, no se encontró efecto de la interacción triple del tiempo con la suplementación ($P = 0,16$; Tabla 10).

Los valores de concentración de gas alcanzados a las 8 hs post alimentación, estuvieron entre 501,2 y 2398,8 ppm, siendo el tratamiento sin suplementación el que produjo las menores concentraciones de H_2S ruminal. No obstante, la producción de H_2S ruminal aumentó numéricamente respecto a 0% SP con la inclusión de 0,5 y 1% PV de SE ($P = 0,18$). Las mayores concentraciones de este gas se encontraron con la incorporación SP en el nivel 0% de SE y en ausencia de SP en el nivel 0,5% de SE. Para el nivel más alto de SE (1% PV), no se observó aumento en la producción de H_2S ruminal y solo se diferenció estadísticamente del resto de los tratamientos cuando los corderos no recibieron SP.

Tabla 9. Valores promedio y error estándar de la media (EEM) del consumo de azufre de corderos alimentados con heno, suplementados con diferentes niveles de energía y de proteína y bebiendo agua de alto tenor de sulfatos.

	mg/ KgPV ^{0,75}						EEM	P valor		SE ^B	SE _{ExSP}
	SP 0%			SP 0,75%				SE ^A			
	0	0,5	1	0	0,5	1		Lineal	Cuad.		
CSA ^C	206,15	216,48	217,54	256,97	315,96	300,92	19,15	0,24	0,30	<0,01	0,25
CST ^D	203,39	246,28	262,44	315,02	379,79	370,99	17,30	0,01	0,18	<0,01	0,54

^A SE: suplementación energética con maíz

^B SP: suplementación proteica con harina de soja

^C CSA: consumo de S en agua; CST: consumo de S total

^D El contenido de S en los ingredientes de la dieta fueron estimados por NRC (2016).

Tabla 10. Valores promedio y error estándar de la media (EEM) de la concentración ruminal de gas H₂S de corderos consumiendo forraje de baja calidad, suplementados con diferentes niveles de energía y de proteína y bebiendo agua de alto tenor de sulfatos.

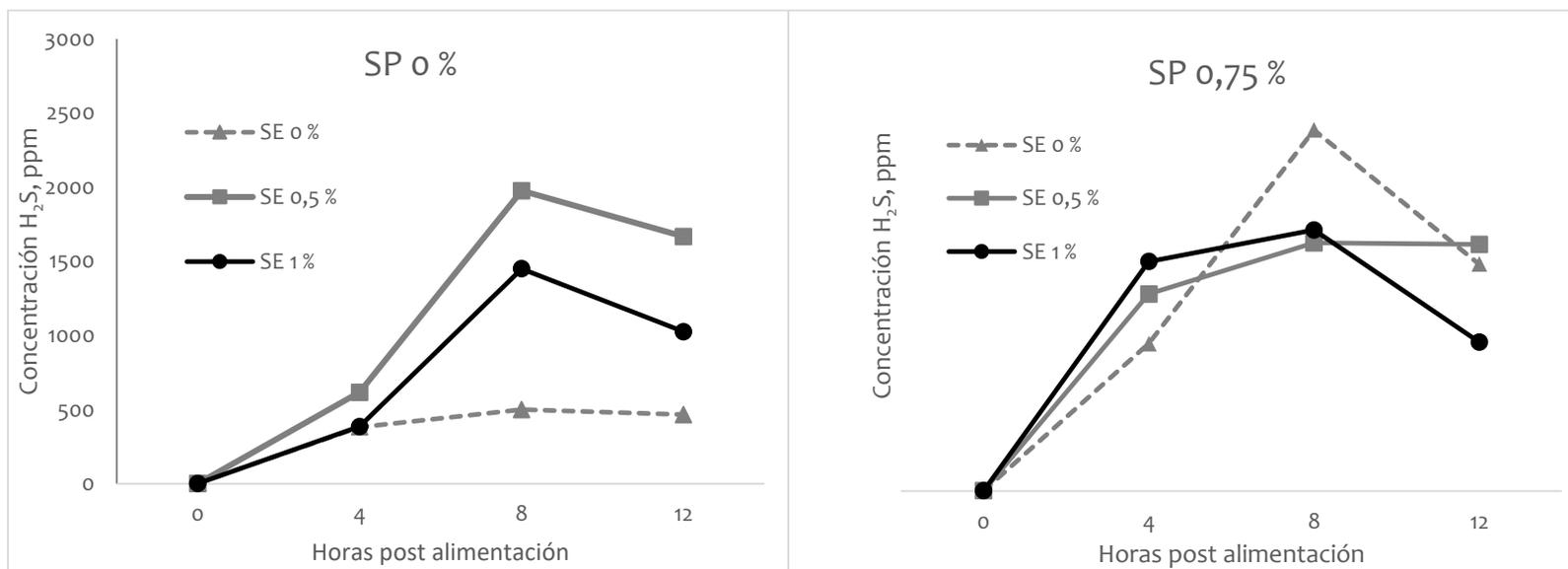
	SP 0%			SP 0,75%			EEM	SE ^A	SP ^B	P valor		
	0	0,5	1	0	0,5	1				H ^C	SE _{ExSP}	SE _{ExSPxH}
Log H ₂ S ¹	2,08	2,38	2,25	2,51	2,49	2,48	0,11	0,18	<0,01	<0,01	0,09	0,16
H ₂ S (ppm) ²	(120,2)	(239,8)	(177,8)	(323,6)	(309,0)	(302,0)						

^A SE: suplementación energética con maíz

^B SP: suplementación proteica con harina de soja

^C H: Tiempo en horas desde alimentación

¹) Medias expresadas en forma logarítmica; ²) Medias transformadas a ppm



SE: Suplementación energética con grano de maíz (0, 0,5 y 1% Peso Vivo)

SP: Suplementación proteica (0%PV; izquierda y 0,75% PV, derecha)

Nivel de significancia: SP: $P < 0,01$; SE: $P = 0,18$; H: $P < 0,01$; SE \times SP: $P = 0,09$; SE \times SP \times H: $P = 0,16$; EEM: 0,11

Figura 3: Concentración ruminal de gas H_2S (ppm) en corderos consumiendo forraje baja calidad y agua de alto tenor de sulfatos a las 0, 4, 8 y 12 horas post alimentación.

CAPITULO V:

DISCUSION Y CONCLUSIONES



1. DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio fue evaluar la combinación de diferentes niveles de suplementación energético-proteica sobre el consumo y utilización de forraje de baja calidad, el uso del N y la concentración de H₂S ruminal en corderos consumiendo agua de bebida con altos tenores de sulfatos. Los resultados expuestos en este trabajo muestran que niveles incrementales de suplementación energético-proteica aumentaron el consumo de MO total y el consumo de agua, mejorando la retención de N de los animales. En contraste a lo esperado, la suplementación energética no favoreció la formación H₂S ruminal.

En general se asume que el aporte de la suplementación proteica a animales que consumen forrajes de baja calidad, mejora el aprovechamiento del forraje (Koster et al., 1996; Bandyk et al., 2001) ya sea por un aumento en el consumo voluntario (Balbuena et al., 2002a; Kucseva y Balbuena, 2003), por un incremento en la digestibilidad de la dieta (Ferrell et al., 1999) y/o en la tasa de pasaje (Wickercham et al., 2004; López et al., 2014). En el presente trabajo, la SP produjo una disminución del CMOF sin afectar la digestibilidad del alimento. Esta respuesta puede atribuirse a un alto consumo basal de forraje (Mertens, 1994), a un elevado nivel de suplementación proteica (Kleveshal et al., 2003), o al consumo de otros nutrientes no nitrogenados (e.i., carbohidratos altamente digestibles o extracto etéreo) que forman parte sustantiva de los suplementos proteicos.

Mertens (1994) y Ferrell et al. (1999) mencionan que se puede esperar un efecto positivo de la suplementación proteica sobre el consumo de forrajes de baja calidad cuando el consumo de FDN de forraje es menor a 12,5 g/kg PV. En presente trabajo, el consumo de FDN del control sin suplementación (14,94 g/kg PV) estuvo por encima del mencionado por estos autores. Los

corderos mostraron una disminución del 12,5% en el CMOF en respuesta a la suplementación con harina de soja. Esta relación entre el potencial aumento de consumo de forraje ante una fuente de proteína suplementaria y el consumo inicial de FDN, encontrada en trabajos anteriores (Bohnert et al., 2002a; Currier et al., 2004; Salisbury et al., 2004; Schauer et al., 2010; López et al., 2017) coinciden con los resultados del presente trabajo.

Por otra parte, se ha observado que el mayor impacto de la suplementación proteica de forrajes de baja calidad se produce cuando el contenido de proteína del forraje basal está por debajo de 6 y 8% (Del Curto et al., 2000; Mathis et al., 2000). El heno de Gatton panic utilizado en este estudio tuvo un contenido de 5,3 % PB, contribuyendo seguramente, junto con el nivel de suplementación utilizado (0,75% PV), a la falta de respuesta en el consumo de forraje a la suplementación proteica. Si bien la suplementación proteica estimula el consumo de forraje, cuando el nivel de suplementación es elevado puede causar un efecto de depresión en el consumo de FDN y de forraje. En este aspecto, Kleveshal et al. (2003) evaluaron la suplementación de niveles crecientes de proteína degradable en rumen sobre el consumo de un forraje similar al utilizado en este estudio (4,9% PB). En dicho experimento observaron un incremento en el consumo de forraje y FDN hasta un nivel de suplementación de PDR de 0,123% del PV. Por el contrario, cuando los niveles de suplementación de PDR fueron superiores (> 0,123% hasta 0,195% PV) lo deprimían, llegando a valores de consumo de forraje similar al control sin suplementación. En el presente experimento, el nivel teórico de suplementación con PDR (estimados en base a datos del contenido de PDR en harina de soja, según NRC 1996) fue 0,21% del PV. El consumo de 0,75% de harina de soja, conllevó a un consumo aproximado de 0,44% del PV de otros nutrientes, principalmente fibra de alta tasa de digestión y en menor grado extracto etéreo. En este sentido, ha sido ampliamente reportado que el suministro de carbohidratos

altamente digestibles y/o grasa reduce el consumo de forraje (Bowman y Sanson, 1996), reforzando la explicación de la respuesta obtenida en el presente trabajo.

Cuando el nivel de consumo del forraje es relativamente elevado, como se observó en este estudio, el suplemento compite con el forraje voluminoso por espacio en el rumen-retículo, incrementando la tasa de sustitución del suplemento por forraje (Chase y Hibberd, 1987; Moore et al., 1999; Currier et al. 2004). De esta forma, la disminución del CMOF encontrada (aproximadamente 21,9% respecto del control) podría estar relacionada a un efecto de sustitución, provocado por la alta palatabilidad y digestibilidad de los suplementos utilizados, coincidiendo con trabajos previos (Garcés-Yépez et al., 1997; Kucseva y Balbuena, 2003; Salisbury et al., 2004). Es así que la suplementación energética tendió al producir un aumento del 18% en el CMOF cuando se suplementó en el nivel medio, cayendo posteriormente un 6% respecto del control, en el nivel máximo de suplementación (1% PV).

El nivel de respuesta esperada también estará en relación al contenido proteico del forraje base y de la especie animal (Chandrasekharaiah et al., 2012; Mc Guire et al., 2013; Riaz et al., 2014).

A pesar de la disminución observada en el consumo de forraje, en coincidencia con trabajos previos, este estudio muestra un incremento en el CMOT, CMOTD, CPB y CPBD en respuesta a la suplementación proteica (Arroquy et al., 2004; López et al., 2017) y energética (Sanson et. al., 1990; Ferrell et al., 1999; Bodine et al., 2000). Se obtuvieron aumentos del 17% y 38 % para CMOT y CMOTD, respectivamente, cuando se incorporó la suplementación proteica y del 41% y 69%, cuando se suplementó con el nivel más alto de energía.

La inclusión creciente de alimentos concentrados energéticos, disminuye el pH ruminal, generando un ambiente propicio para el aumento de la concentración ruminal de H₂S (Ritcher,

2011; Morine et al., 2014a; Nichols et al., 2013). Se cree que la concentración ruminal de H₂S podría estar vinculada a la alteración en el consumo de alimento, (Loneragan et al., 1998; Drewnoski et al., 2013), aunque se desconocen con precisión los mecanismos. Por lo tanto, la suplementación con grano de maíz, en animales consumiendo aguas con elevado tenor de sulfatos, podría contribuir a generar pérdidas en el consumo de alimento, consumo de agua y performance animal (Loneragan et al., 2001). Además, es probable que existan alteraciones en la funcionalidad ruminal (Kandyliis, 1984) y que se desencadenen episodios de toxicidad (Richter, 2011) como consecuencia del aumento en la concentración de H₂S en el rumen.

Sin embargo, de acuerdo a los resultados observados en este trabajo (aumentos en CMOT, CMOTD y CA), la SE resulta ser una estrategia de suplementación factible de realizar en animales consumiendo forrajes de baja calidad y bebiendo agua con elevados contenidos de sulfatos. Considerando las características de la alta degradabilidad de los suplementos utilizados en este ensayo, junto con la cantidad de sulfatos en el agua de bebida, es importante remarcar que los niveles de concentración de gas H₂S ruminal estuvieron por debajo de los 2000 ppm en todos los tratamientos. Este valor es considerado como umbral a partir del cual las posibilidades de producirse una intoxicación por sulfato se elevan considerablemente (Gould, 1998; Loneragan et al., 2001).

Se sabe que existe una importante correlación entre el consumo de agua y el consumo de alimento (Utlely et al., 1970; NRC, 1996; Brew et al., 2011), por lo que la calidad del agua de bebida afecta el consumo de alimento. Una restricción en el consumo de agua, ya sea por efecto de la mala calidad o por escasa disponibilidad o accesibilidad, repercute de manera directa sobre el consumo de alimento (van der Walt et al., 1999; Silanikove, 2000). Reportes previos indican

que elevadas concentraciones de sales en el agua de bebida, especialmente sulfatos, reducen tanto el consumo de alimento como de agua (Weeth y Hunter, 1971; Loneragan et al., 2001; López et al., 2014).

Patterson et al. (2003) reportaron una reducción lineal del CA y cuadrática del consumo de MS de alimento en novillos, cuando el contenido de STD aumentaba de 1200 a 7200 mg/L y la concentración de SO_4^- en el agua aumentaba de 400 a 4600 mg/L. En dicho trabajo, fue muy alta la incidencia de PEM en el tratamiento de mayor contenido de sales en agua, reportando un 33% de mortalidad de los animales en estudio. En el presente trabajo el contenido de sales del agua (7947 mg/L STD; 4430 mg/L sulfatos), no produjo limitaciones en el CMOT, como así tampoco tuvo efectos perjudiciales sobre la salud animal. Los animales permanecieron en buen estado general durante todo el ensayo, sin manifestaciones subclínicas ni clínicas de enfermedad (PEM), a diferencia de lo registrado por el mencionado autor.

En el presente estudio, la suplementación proteica produjo también incrementos en el CA, coincidiendo con resultados obtenidos previamente (Goodwin y Williams, 1984; López et al., 2014; López et al. 2017). Si bien el aumento del consumo de agua, está relacionado con el consumo de proteína (Dinn et al., 1998) y la necesidad de excretar los productos de metabolismo proteico (Goodwin y Williams, 1984; Kume et al., 2010), también indicaría que la suplementación proteica podría ser una estrategia para mejorar la eficiencia de uso de aguas con elevados tenores salinos. Por lo tanto, cualquier estrategia nutricional que permita mejorar la utilización (i.e. aumentar el consumo) del agua de bebida repercutirá favorablemente sobre el consumo de alimento. En este estudio, la suplementación proteica aumentó el consumo de agua, concordando con resultados de trabajos anteriores (López et al., 2014).

Por otro lado, si bien los ovinos tienen mayores requerimientos dietarios de S que los bovinos para carne (NRC, 1975 en Goodrich y Thompson, 1981), podrían también tener un mayor nivel de tolerancia a altos tenores de sales, como a los que fueron expuestos. En 1966, Wilson mencionaba que los ovinos tienen capacidad de adaptarse al consumo de agua salada, pudiendo compensar también el consumo de alimento. Más allá del aumento en el estímulo del CA producido por la suplementación energético proteica, el ambiente térmico en el que se llevó a cabo el experimento (temperaturas medias diarias de $23,6 \pm 3,2^{\circ}\text{C}$, con máximas de $29,5 \pm 4,3^{\circ}\text{C}$ y mínimas de $18,1 \pm 3,1^{\circ}\text{C}$) contribuyó para no aumentar las demandas en CA de los animales y disminuir el efecto perjudicial de la concentración de sulfatos (McAllister et al., 1997; Loneragan et al., 2001; Crawford, 2007).

En el presente trabajo, la interacción entre suplementos mejoró la DPB y DFDN. La digestión de la fibra, fue mayor en el tratamiento control con respecto a niveles crecientes de suplementación energética. Sin embargo, este efecto negativo de la suplementación energética sobre la DFND (Sanson et al., 1990; Henning et al., 1980; Heldt et al., 1999a, b) se revirtió con el agregado de SP, coincidiendo con otros autores (Heldt et al., 1999b; Klevesahl et al., 2003; Chandrasekharaiah et al., 2012). Con la suplementación con grano, la DMOT aumentó de manera lineal un 19,7% respecto del control sin suplementación, mientras que la suplementación proteica produjo un cambio del 20,5% respecto del control. Los cambios encontrados en la DMOT serían atribuibles a la alta digestibilidad de la harina de soja y el grano de maíz *per se*, ya que no se vieron mejoras en la digestión de la fibra atribuidas a efectos individuales de los suplementos utilizados, coincidiendo con resultados anteriormente reportados (Del Curto et al., 1990; Currier et al., 2004; Schauer et al., 2010). Es importante notar que la suplementación con maíz en ausencia de

suplementación proteica disminuyó la DFDA, lo cual podría deberse a que los carbohidratos no estructurales del maíz (almidón) afectaron las condiciones ruminales (i.e. bajo pH, mayor tasa de pasaje) para la digestión de la FDA (Farmer, et al., 2014; Sari, et al. 2015).

La presencia de elevados niveles de S en la dieta (0,7%) no provocó disminución en la DMOT, DPB, ni de la DFND, coincidiendo con otros trabajos previos (Zinn et al., 1997; Krasicka et al., 1999).

Los rumiantes tienen capacidad de reciclar N, sobre todo cuando son alimentados con forrajes deficientes en PB. Existe una relación positiva entre el balance de N y el consumo y disponibilidad de N digestible en la dieta (Wickersham et al., 2008; Spek et al., 2012). En general la SP aumenta la retención de N y la eficiencia del uso del N en rumiantes que consumen forrajes de baja calidad (Bohnert et al., 2002b, Swanson 2004; Mc Guire 2013). Investigaciones recientes indican que en situaciones donde corderos fueron expuestos con agua de altos contenidos de sales (SO_4^-) y forrajes de baja calidad, requirieron mayores niveles de suplementación proteica para maximizar el balance y la eficiencia de uso del N (López, et al 2017). Considerando que, con un adecuado aporte proteico, es posible suplementar forrajes de baja calidad con carbohidratos no fibrosos, sin perjuicio en la digestión de la MO (Arroquy et al., 2004), en el presente trabajo el aporte de energía permitió maximizar el balance y la eficiencia de uso del N cuando los corderos fueron suplementados con proteína.

Wickersham et al. (2008) reportaron que incrementos en el consumo de forraje, producidos a causa de una fuente de proteína suplementaria, incrementaron las pérdidas de N fecal, por residuos de forraje indigestible y pérdidas de proteína endógena. En concordancia con Marini y Van Amburgh (2003), en este estudio, no se observaron incrementos en la excreción fecal de N

ante aumentos en el consumo de N. Esto podría estar relacionado con que, en el presente trabajo, el agregado de SP disminuyó el CMOF, no produciéndose por ende incrementos en los residuos indigestibles del forraje.

Por el contrario, al incremento del consumo de N mediante la SP, aumentó las pérdidas de N por un aumento en el volumen de orina, la excreción de N urinario y la concentración de urea en orina, tal como fue reportado por otros autores (Swanson et al., 2004; Wickersham et al., 2008; López et al., 2017).

Por su parte, la incorporación de SE, no modificó las variables de excreción de N, indicando un mejor aprovechamiento del NH_3^+ producido en el rumen por los microorganismos (Cabrita et al., 2006). Dado que el uso de NH_3^+ ruminal para la síntesis de proteína microbiana es un proceso dependiente de energía (Reynolds y Kristensen, 2008), la SE puede haber contribuido a un correcto uso del forraje y del N a nivel ruminal, favorecido por la sincronía entre la disponibilidad proteica y energética (Cabrita et al., 2006).

Este patrón de respuesta estaría relacionado con la suplementación proteica y el elevado consumo de sales en el agua de bebida (Spek et al., 2012). Como se mencionó previamente, la proteína tiene un efecto diurético, incrementando el volumen de orina producido debido a que el animal debe eliminar los subproductos del metabolismo del nitrógeno (Goodwin y Williams, 1984; Kume et al., 2010). Lo cual, en consecuencia, aumentaría los requerimientos de agua de los animales. Esto último explicaría al menos parcialmente el incremento observado en CA en los corderos suplementados con proteína.

No se encontraron reportes publicados que describan el balance y eficiencia de uso del N teniendo en cuenta la interacción entre agua de bebida y la suplementación energética-proteica. Por lo que podría ser, esta la primera vez que se reporta una interacción en suplementación

proteica y energética en el balance de N de animales consumiendo aguas con elevados niveles de sulfatos. Niveles incrementales de energía mejoraron la retención de N, tanto en los tratamientos con o sin suplementación proteica, lo cual estaría sugiriendo que el consumo de energía afectó la eficiencia de uso del N tal como fuera reportado por Schroeder (et al., 2006a).

Como se mencionó anteriormente, en el presente trabajo la suplementación proteica produjo aumentos en el consumo de agua; del mismo modo, el CSA fue más elevado en los animales que recibieron SP, coincidiendo con el trabajo de López et al. (2017). Más allá del elevado contenido de sales, especialmente de sulfatos en el agua de bebida, ésta no afectó la salud animal.

El consumo de azufre total (CST) en todos los tratamientos superó el umbral de tolerancia recomendado por NRC para rumiantes mayores y menores que corresponde a 0,4 % y 0,5% MS dieta, respectivamente (NRC, 2000; NRC, 2007). El consumo de azufre total mostro los valores más elevados (0,70%), en presencia de SP e independientemente del nivel proteico, en los niveles más altos de inclusión de granos. En un estudio realizado por Krasicka (et al. 1999) con ovejas alimentadas con una dieta que contenía 0,8% de azufre en la MS, los animales enfermaron y tuvieron signos clínicos de PEM. A diferencia de ese trabajo, en este estudio, los valores de consumo de S registrados no llegaron a producir signos que puedan ser relacionados con PEM. Esto posiblemente podría estar relacionado a que, si bien se utilizó un suplemento energético de alta degradabilidad en un nivel de inclusión elevado, modificando el consumo de FDN total, el consumo de FDN de forraje inicial fue elevado. Varios autores indican (Nichols et al., 2013; Drewnoski et al., 2014; Morine et al., 2014b) que existe una interacción entre el nivel de consumo de FDN de forraje y la producción de H₂S ruminal, principalmente relacionado al

incremento del pH ruminal producido por el consumo de fibra. Más allá de que en este estudio no se midió pH ruminal, los registros de producción de H₂S ruminal, no superaron los umbrales críticos propuestos por Gould (1998), por lo que los animales no mostraron signos clínicos de PEM, coincidiendo con los resultados obtenidos por Neville et al. (2011).

La suplementación energético-proteica provocó aumentos en la producción de gas H₂S ruminal. Sin embargo, los niveles de concentración de gas sulfuro, no alcanzaron para generar signos clínicos de PEM, aun habiéndose registrado un valor máximo de 2398 ppm en el tratamiento con SP en el nivel 0% SE a las 8 hs post alimentación.

En base a estos resultados y a evidencias previas que asocian negativamente las elevadas concentraciones H₂S con el desempeño animal (Gould, 1998; Loneragan et al., 1998; Neville et al., 2011), podría ser de interés evaluar, bajo estas condiciones de alimentación, el impacto de este gas sobre otros parámetros de respuesta animal.

Liming Kung (2011) sugiere que cuando los niveles de consumo de azufre son moderadamente elevados, se lleva a cabo un proceso de adaptación para que no se manifieste PEM hasta 2 a 4 semanas después del inicio del consumo de altos niveles de azufre.

2. CONCLUSIÓN E IMPLICANCIAS

La suplementación energético - proteica de forrajes de baja calidad, en situaciones de consumo de agua de alto contenido de sulfatos, permite corregir y mejorar la eficiencia de uso del nitrógeno, sin generar riesgos de toxicidad por sulfatos. Los resultados de este trabajo, son un aporte más para la toma de decisiones al momento de mejorar la habilidad de diseñar estrategias

de suplementación que ayuden a mejorar la productividad de rumiantes en condiciones de baja calidad de forraje y alta salinidad en agua de bebida.

Sería importante de considerar para futuros ensayos, aumentar la duración de los experimentos y contemplar el tiempo realmente necesario para la adaptación de la microflora ruminal a los tratamientos y características de la dieta (Neville et al., 2011). Así mismo, futuros ensayo deberían llevarse adelante para evaluar el efecto del consumo de agua con altos tenores de sulfato y la suplementación energético proteica de forraje de baja calidad sobre la producción ruminal de H₂S, considerando condiciones mayores temperaturas ambientales (McAllister et al., 1997).

Futuras investigaciones deberían enfocarse en determinar el rango de posibles concentraciones de H₂S ruminal que puedan ser consideradas perjudiciales para la salud animal y la variedad de combinaciones de ingredientes dietarios que puedan producir tales condiciones patológicas en el rumen.

CAPITULO VI:

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED MUNA, M.M. and EL SHAFEI AMMAR, I. 2001. Effects of water and feed restriction on body weight change and nitrogen balance in desert goats fed high and low quality forages. *Small Rumin. Res.* 41: 19-27.
- AMARAL, D. M., CROOM, W. J., RAKES, A. H., LEONARD, E. S. and LINNARD, A.C. 1985. Increased concentration of sodium chloride on milk production of cows fed low fiber diets. *J. Dairy Sci.* 68:2940-2947.
- ARIAS, R. A. and MADER T. L. 2011. Environmental factors affecting daily water intake on cattle finished in feedlots. *J. Anim. Sci.* 89:245-251.
- ARROQUY, J.I., COCHRAN, R.C., NAGARAJA, T.G., TITGEMEYER, E.C., and JOHNSON, D.E. 2005. Effect of types of non-fiber carbohydrate on in vitro forage fiber digestion of low-quality grass hay. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 120: 93-106.
- ARROQUY, J.I., CONCHRAN, R.C., WICKERSHAM, T.A., LLEWELLYN, D.A., TITGEMEYER, E.C., NAGARAJA, T.G., and JOHNSON, D.E. 2004. Effect of type of supplemental carbohydrate and source of low quality forage utilization by beef steers. *Animal Feed Sci. and Tech.* 115:247:263.
- ASPLUND, J. M. and PFANDES, W. H. 1972. Effects of water restriction on nutrient digestibility in sheep receiving fixed water: feed ratios. *J. Anim. Sci.* 35:1271-1274.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 1990. Official methods of analysis. 15th ed. AOAC, Arlington VA.
- BALBUENA, O., ROCHINOTTI, D., ARAKAKI, C.L., KUCSEVA, C.D., SOMMA DE FERÉ, G.R., SLANAC, A.L., KOZA, G.A., SCHREINER, J.J., y NAVAMUEL, J.M. 2002a. Suplementación proteica y

- consumo, cinética de la digesta y digestibilidad de heno de pasto estrella. *Rev.Arg. Prod. Anim.* 22(Supl. 1):18-19.
- BANDYK, C. A., R. C. COCHRAN, T. A. WICKERSHAM, E. C. TITGEMEYER, C. G. FARMER, J. J. HIGGINS. 2001. Effect of ruminal vs. postruminal administration of degradable protein on utilization of low-quality forage by beef steers. *J. Anim. Sci.* 79:225-231
- BANTA, J.P., LALMAN, D.L., OWENS, F.N., KREHBIEL, C.R., Y WETTEMANN, R.P. 2006. Effects of interval-feeding whole sunflower seeds during mid to late gestation on performance of beef cows and their progeny. *J. Anim. Sci.*, 84: 2410–2417.
- BASÁN NICKISCH, M., 2007. Manejo de los recursos hídricos en zonas áridas y semiáridas para áreas de secano. Ed. INTA EEA Santiago del Estero.
- BEEDE, D. K. 2012. What will our ruminants drink? *Anim. Frontiers* 2:36-43.
- BIRD, P. R. 1972. Sulphur metabolism and excretion studies in ruminants: X. Sulphide toxicity in sheep. *Aust. J. Biol. Sci.* 25:1087-1098.
- BODINE, T.N., PURVIS, H.T.2nd, ACKERMAN, C.J. AND GOAD, C.L.2000. Effects of supplementing prairie hay with corn and soybean meal on intake, digestion, and ruminal measurements by beef steers. *J. Anim. Sci.* 78:3144-3154.
- BOHNERT D.W., SCHAUER, C.S. FALCK S.J., and DELCURTO, T. 2002b. Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on steers consuming low-quality forage: II. Ruminal fermentation characteristics *J. Anim. Sci.* 80:2978-2988.

- BOHNERT, D. W., SCHAUER, C.S., DELCURTO, T. 2002a. Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on performance and nitrogen use in ruminants consuming low-quality forage: Cow performance and efficiency of nitrogen use in wethers. *J. Anim. Sci.* 80:1629-1637.
- BOWMAN, J.G.P., Y SANSON, D.W. 1996. Starch- or fiber-based energy supplements for grazing ruminants. Pages 118–135 in *Proc. Grazing Livest. Nutr. Conf.*, Rapid City, SD.
- BREW, M.N., MYER, R.O, HERSOM, M.J., CARTER, J.N., ELZO, M.A., HANSEN, G.R. and RILEY, D.G. 2011. Water intake and factors affecting water intake of growing beef cattle. *Livest. Sci.* 140 297–300
- CABRITA, A.R., DEWHURST, R.J., FERNANDES ABREU, J.M. y MIRA FONSECA, A. J. 2006. Evaluation of the effects of synchronising the availability of N and energy on rumen function and production responses of dairy cows - a review. *Anim. Res.* 55: 1–24.
- CAMMACK, K.M., WRIGHT, C.L., AUSTIN, K.J., JOHNSON, P.S., COCKRUM, R.R., KESSLER, K.L. and OLSON, K.C. 2010. Effects of high-sulfur water and clinoptilolite on health and growth performance of steers fed forage-based diets
- CATON, J.S. and DHUYVETTER, D.V. 1997. Influence of energy supplementation on grazing ruminants: requirements and responses. *J. Anim. Sci.* 75:533-542.
- CHANDRASEKHARAI AH, M., THULASI, A. and SAMPATH, K. T. 2012. Effect of different rumen degradable nitrogen levels on microbial protein synthesis and digestibility in sheep fed on finger millet straw (*Eleusine coracana*) based diet. *Small Rumin. Res.* 102:151-156.

- CHASE, C.C Jr., and HIBBERD C.A. 1987. Utilization of low-quality native grass hay by beef cows fed increasing quantities of corn grain. *J. Anim. Sci.* 65:557.
- CHURCH, D. C. 1988. *The ruminant animal: digestive physiology and nutrition*. Prospect Heights, IL. Waveland Press, Inc. 564 p.
- CIRIO, A. and BOIVIN, R., 1990. Extraction renale du para-aminohippurate et de l'inuline chez le mouton carence en proteines. *Ann. Rech. Vet.* 21, 167-170.
- CLANTON, D.C. 1982. Crude protein in range supplements. In: F. N. Owens (Ed.) *Protein Requirements for Cattle*. Oklahoma State Univ. MP-109:228.
- COCHRAN, R. C., KÖSTER, H.H., OLSON, K.C., HELDT, J.S., MATHIS, C.P. and WOODS, B.C. 1998. Supplemental protein sources for grazing cattle. In: 9th Florida Ruminant Nutrition Symposium, Gainesville. p. 123–136
- COCHRAN, R.C., KÖSTER, H.H., OLSON, K.C., HELDT, J.S., MATHIS, C.P. and WOODS, B.C., 1997. Observations regarding the amount and source of degradable intake protein in supplements for beef cattle consuming low-quality forages. In: AFIA Liquid Feed Symposium Proceedings, St. Louis, MO, pp. 17-30.
- CORDES, C.S., TURNER, K.E., PATERSON, J.A., BOWMAN, J.G.P. and FORWOOD, J.R. 1988. Corn gluten feed supplementation of grass hay diets for beef cows and yearling heifers. *J. Anim.Sci.* 66: 522.
- CORIA, M.L., FAY, J.P., CSEH, S.B. y BRIZUELA M.A. 2007. Efecto de las concentraciones elevadas de sales totales y sulfatos en agua de bebida sobre la degradabilidad ruminal *in vitro* de *Thinopyrum ponticum*. *Arch. med. vet.* v.39 n.3 p: 261-267

- CORNACCHIONE, M.V., FUMAGALLI, A.E., GONZÁLEZ PÉREZ, M.A., SALGADO, J.M., ONETO, C., SOKOLIC, L., y MIJOEVICH, L.M. 2008. Calidad estivo-otoñal de cuatro gramíneas forrajeras tropicales. *Revista Argentina de Producción Animal*, 28: 349-543.
- CRAWFORD, G.I. 2007. Managing sulfur concentrations in feed and water. In 68th Minnesota Nutrition Conference.
- CROOM, W. J., HARVEY, R. W., LINNERUD, A. C. and FROETSCHER, M. 1982. High levels of sodium chloride in beef cattle diets. *Can. J. Anim. Sci.* 62:217-227.
- CUNHA P.H.J., BADIAL, P.R., OLIVEIRA FILHO, J.P., CAGNINI, D.Q., MOARES, L.F., TAKAHIRA, R.K. Y BORGES, A.S. 2011. Concentração ruminal de sulfeto de hidrogênio mensurada por tubos colorimétricos em bovinos nelore sadios criados extensivamente. *Vet. e Zootec.* 18(2): 313-319.
- CURRIER, T. A., BOHNERT, D.W., FALCK, S.J. and BARTLE, S.J. 2004. Daily and alternate day supplementation of urea or biuret to ruminants consuming low-quality forage: I. Effects on cow performance and the efficiency of nitrogen use in wethers. *J. Anim. Sci.* 82:1508-1517.
- DELCURTO, T., HESS, B.W., HUSTON, J.E. AND OLSON, K.C. 2000. Optimum supplementation strategies for beef cattle consuming low-quality roughages in the western United States. *J. Anim. Sci.* 77:1-16.
- DELCURTO, T., COCHRAN, R.C., HAERMAN, D.L., BEOHARKA, A.A., JACQUES, K.A., TOWNE, G., and VANZANT, E.S. 1990. Supplementation of dormant tallgrass-prairie forage: I.

- Influence of varying supplemental protein and (or) energy levels on forage utilization characteristics of beef steers in confinement. *J. Anim. Sci.* 68: 515.
- DETMANN, E., VALENTE, E.E.L., BATISTA, E.D., and HUHTANEN, P. 2014. An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. *Livest. Sci.* 162: 141–153
- DIGESTI, R.D., and WEETH, H.J. 1976. A defensible maximum for inorganic sulfate in drinking water of cattle. *J. Anim. Sci.* 42:1498-1502.
- DIJKSTRA J., OENEMA, O., VAN GROENIGEN, J.W., SPEK, J.W., VAN VUUREN, A.M. AND BANNINK, A. 2013. Diet effects on urine composition of cattle and N₂O emission. *Animal* 7:292–302
- DINN, N. E., SHELFORD, J. A. and FISHER, L. J. 1998. Use of the Cornell Net Carbohydrate and Protein System and Rumen-Protected Lysine and Methionine to Reduce Nitrogen Excretion from Lactating Dairy Cows. *J of Dai. Sci.* 81(1): 229-237.
- DI RIENZO, J.A., CASANOVES, F., BALZARINI, M.G., GONZALEZ, L., TABLADA, M. y ROBLEDO C.W. 2016. InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- DIXON, R.M. and COATES, D.B. 2010. Diet quality estimated with faecal near infrared reflectance spectroscopy and responses to N supplementation by cattle grazing buffel grass pastures. *Anim. Feed Sci.Tech.*158:115-125.
- DREWNOSKI, M. E., POGGE, D. J. and HANSEN. S.L. 2014. High-sulfur in beef cattle diets: A review. *J. Anim. Sci.* 92:3763-3780.

- DREWNOSKI, M. E., y HANSEN, S. L. 2013. Effect of delaying the feeding of high sulfur until 28 days after adaptation to finishing diet on cattle intake, gain, and ruminal hydrogen sulfide concentrations. *Livest. Sci.* 155:230-235.
- EGAN, A.R. Y DOYLE, P.T. 1985. Effects of intraruminal infusion of urea on the response in voluntary food intake by sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 36: 483.
- ERGENE, N. and PICKERING, E. C.1978.The effects of reducing dietary nitrogen and of increasing sodium chloride intake on urea excretion and reabsorption and on urine osmolality in sheep. *Quarterly J. of Exp. Phy.* 63: 67-76
- FARMER, E. R., TUCKER H. A, DANN H. M., COTANCH, K. W., MOONEY, C. S., LOCK, A. L, YAGI, K. 2014. Effect of reducing dietary forage in lower starch diets on performance, ruminal characteristics, and nutrient digestibility in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 97 :5742–5753.
- FERGUSON, K.A. and SOLOMON, D.H., 1971. Method and food composition for feeding ruminants. U.S. patent #3, 619,200.
- FERRELL, C.L., KREIKEMEIER, K. K., and FREETLY, H.C. 1999. The effect of supplemental energy, nitrogen, and protein on feed intake, digestibility, and nitrogen flux across the gut and liver in sheep fed low-quality forage. *J. Anim. Sci.* 77:3353-3364.
- GARCÉS-YÉPEZ, P., KUNKLE, W.E., BATES, D. B., MOORE, J.E., THATCHER, W.W. and SOLLENBERGER, L.E. 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.

- GARLEB, K.A., FAHEY, G.C. JR., LEWIS, S.M., KERLEY, M.S., and MONTGOMERY, L. 1988. Chemical composition and digestibility of fiber fractions of certain by-product feedstuffs fed to ruminants *J. Anim. Sci.* 66:2650.
- GODWIN, I.R. and WILLIAMS, V.J., 1986. Effects of intraruminal sodium chloride infusion on rumen and renal nitrogen and electrolyte dynamics in sheep. *Br. J. Nutr.* 56, 379-394.
- GODWIN, I.R. and WILLIAMS, V.J., 1984. Renal control of plasma urea level in sheep: the diuretic effect of urea, potassium and sodium chloride. *Qua. J. Exp. Phy.* 69, 49-59.
- GOODRICH, R.D. and THOMPSON, W.R. 1981. Sulfur. *Anim. Nutrition&Health.*
- GOULD, D. H. 2000. Update on sulfur-related polioencephalomalacia. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 16:481-495.
- GOULD, D. H. 1998. Polioencephalomalacia. *J. Anim.Sci.* 76:309-314.
- GOULD, D. H., CUMMINGS, B. A. and HAMAR, D. W. 1997. In vivo indicators of pathologic ruminal sulfide production in steers with diet-induced polioencephalomalacia. *J. Vet. Diagn. Invest.* 9:72-76.
- GROUT, A. S., VEIRA, D.M., WEARY, D.M., VON KEYSERLINGK, M.A.G. and FRASER, D. 2006. Differential effects of sodium and magnesium sulfate on water consumption by beef cattle. *J. Anim. Sci.* 84:1252-1258.
- HELDT, J.S., COCHRAN, R.C., MATHIS, C.P., WOODS, B.C., OLSON, K.C., TITGEMEYER, E.C., NAGARAJA, T.G., VANZANT, E.S. and JOHNSON, D.E. 1999b. Effects of level and source of carbohydrate and level of degradable intake protein on intake and digestion of low-quality tallgrass-prairie hay by beef steers. *J Anim. Sci.* 77:2846-2854.

- HELDT, J.S., COCHRAN, R.C., STOKKA, G.L., FARMER, C.G., MATHIS, C.P., TITGEMEYER, E.C. and NAGARAJA, T.G. 1999a. Effects of different supplemental sugars and starch fed in combination with degradable intake protein on low-quality forage use by beef steers. *J. Anim. Sci.* 77:2793- 2802.
- HENNESSY, D.W., WILLIAMSON, P.J., NOLAN, J.V., KEMPTON, T.J. and LENG, R.A. 1983. The roles of energy- or protein-rich supplements in the subtropics for young cattle consuming basal diets that are low in digestible energy or protein. *J. Agric. Sci.* 100: 657-666.
- HENNING, P. A., VANDERLINDEN, Y., MATTHEYSE, M.E., NAUHAUS, W.K. H., SCHWARTZ, M. and GILCHRIST, F.M.C. 1980. Factors affecting the intake and digestion of roughage by sheep fed maize straw supplemented with maize grain. *J. Agric. Sci.* 94: 565.
- HOLLINGSWORTH - JENKINS, K. J., KLOPFENSTEIN, T.J., ADAMS, D.C. and LAMB, J.B. 1996. Ruminally degradable protein requirement of gestating beef cows grazing native winter sandhills range. *J. Anim. Sci.* 74:1343-1348.
- INTA. 2013. Guía para cuidado y uso de animales de experimentación. <http://www.inta.gob.ar/documentos/manuales-sobre-cuidado-y-supervision-y- uso-de-animales.pdf> (disponible *on line* 19 febrero 2013).
- ISOZAKI, T., GILLIN, A. G., SWANSON, C. E. and SANDS, J. M., 1994. Protein restriction sequentially induces new urea transport processes in rat initial IMCD. *Am. J. Physiol.* 266: F756-F761.
- KANDYLIS, K. 1984. Toxicology of sulfur in ruminants. Review. *J. Dairy Sci.* 67:2179-2187.
- KAY, R. N. B. 1997. Responses of African livestock and wild herbivores to drought. *J. Arid Env.* 37:683-694.

- KENNEDY, P.M. and MILLIGAN, L.P. 1980. The degradation and utilization of endogenous urea in the gastrointestinal tract of ruminants: a review. *Can. J. Anim. Sci.* 60:205-221.
- KLEVESAHL, E.A., CONCHRAN, R.C., and TITGEMEYER, E.C. 2003. Effect of a wide range in ratio of supplemental rumen degradable protein to starch on utilization of low- quality, grass hay by beef steers. *Animal Feed Sci. and Tech.* 105, 5: 20.
- KNIGHT C.W., OLSON, K.C., WRIGHT, C.L, AUSTIN, K.J., CAMMACK, K.M. and COCKRUM, R. 2008. Sulfur-induced polioencephalomalacia in roughage-fed feedlot steers administered high-sulfur water. *Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science.* 59: 364-366.
- KÖSTER, H. H., COCHRAN, R.C., TITGEMEYER, E.C., VANZANT, E.S., ABDELGADIR, I. and ST-JEAN, G.1996. Effect of increasing degradable intake protein on intake and digestion of low-quality, tallgrass- prairie forage by beef cows. *J. Anim. Sci.* 74:2473–2481.
- KRASICKA, B., GRALAK, M.A., SIERANSKA, B. and KULASEK, G. 1999. The influence of dietary sulphur loading on metabolism and health in young sheep fed low fibre and high starch diet. *Reprod. Nutr. Dev.* 39:626-636.
- KUCSEVA, C.D. Y BALBUENA, O. Efectos de la Suplementación Sobre el Consumo de Pastos Tropicales. En: *Jornadas Proyecto Nacional de Nutrición Animal, Programa Nacional Carnes, Proyecto Integrado Nutrición.* Ediciones INTA. ISBN N° 978-987-1623-96-9. pp. 47-57.
- KUME S., NONAKA, K., OSHITA, T. and KOZAKAI, T. 2010. Evaluation of drinking water intake, feed water intake and total water intake in dry and lactating cows fed silages. *Livest. Sci.*128: 46–51

- LAPIERRE, H. and LOBLEY, G.E. 2001. Nitrogen Recycling in the Ruminant: A Review. *J. Dairy Sci.* 84:E223-E236
- LARDNER, H.A., BRAUL, L., SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K., SCHWEAN-LARDNER, K., DAMIRAN, D. and DARAMBAZAR, E. 2013. Consumption and drinking behavior of beef cattle offered a choice of several water types. *Livest. Sci.* 157: 577–585.
- LAZZARINI, I., DETMANN, E., SAMPAIO, C.B., PAULINO, M.F., VALADARES FILHO, S.C., SOUZA, M.A., and OLIVEIRA, F.A. 2009. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. *R. Bras. Zootec.* 38 n.10: 2021-2030.
- LEIBOVICH, J., VASCONCELOS, J.T. and GALYEAN, M.L. 2009. Effects of corn processing method in diets containing sorghum wet distillers grain plus solubles on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle and on in vitro fermentation of diets. *J. Anim. Sci.* 87:2124-2132.
- LENG, R.A. 1990. Factors affecting utilization of poor quality forages by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutr. Res. Rev.*, 3: 277-303.
- LENG, L., SZANYIOVA, M., and BODA, K., 1985. The renal response of sheep to a low dietary nitrogen intake. *Phy. Bohemo. (Praha)*. 34, 147-154.
- LIMIN KUNG, J. 2008. Burping can be dangerous if you are a Ruminant: Issues with High Sulfur Diets. Presented at: Four-State Dairy Nutrition and Management Conference, Dubuque, Iowa. Pag. 30-38.

- LONERAGAN, G. H., WAGNER, J.J., GOULD, D.H., GARRY, F.B., and THOREN, M.A. 2001. Effects of water sulfate concentration on performance, water intake, and carcass characteristics of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 79:2941–2948.
- LONERAGAN G.H., GOULD, D.H., CALLAN, R.J., SIGURDSON, C.J., and HAMAR, D.W. 1998. Association of excess sulfur intake and an increase in hydrogen sulfide concentrations in the ruminal gas cap of recently weaned beef calves with poliencephalomalacia. *J. of the American Vet. Med. Assoc.* 213(11):1599-1604
- LÓPEZ, A., ARROQUY, J.I., JUAREZ SEQUEIRA, A.V., DI LORENZO, N., BARRIONUEVO, M.C. and DISTEL, R.A. 2017. High-sulfate water consumption determines intake and metabolic responses to protein supplementation in lambs consuming low quality forage. *J. Anim. Sci.* 95(5):2111-2120
- LÓPEZ, A., ARROQUY, J.I., JUAREZ SEQUEIRA, A.V., GRACIA, M., NAZARENO, M., CORIA, H., and DISTEL, R.A. 2014. Effect of protein supplementation on tropical grass hay utilization by beef steers drinking saline water. *J. Anim. Sci.* 92:2152-2160
- MARINI, J.C. and VAN AMBURGH, M.E. 2003. Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers. *J. Anim. Sci.* 81:545-552.
- MARSTON, T.T., LUSBY, K.S., WETTEMANN, R.P., and PURVIS, H.T. 1995. Effects of feeding energy or protein supplements before or after calving on performance of spring-calving cows grazing native range. *J. Anim. Sci.* 73: 657–664.
- MASTERS, D. G., BENES, S. E. and NORMAN, H. C. 2007. Biosaline agriculture for forage and livestock production. *Agric. Ecosyst. Environ.* 119:234-248.

- MATHIS, C. P., COCHRAN, R.C., HELDT, J.S., WOODS, B.C., ABDELGADIR, I.E., OLSON, K.C., TITGEMEYER, E.C. and VANZANT, E.S. 2000. Effects of supplemental degradable intake protein on utilization of medium to low-quality forages. *J. Anim. Sci.* 78:224–232.
- MCALLISTER, M.M., GOULD, D.H., RAISBECK, M.F. CUMMINGS, B.A. and LONERAGAN, G.H. 1997. Evaluation of ruminal sulfide concentrations and seasonal outbreaks of polioencephalomalacia in beef cattle in a feedlot. *J Am Vet Med Assoc.* 211:1275-9.
- MCGUIRE, D.L., BOHNERT, D.W. SCHAUER, C.S., FALCK, S.J. and COOKE, R.F. 2013. Daily and alternate day supplementation of urea or soybean meal to ruminants consuming low-quality cool-season forage I: Effects on efficiency of nitrogen use and nutrient digestion. *Livest. Sci.* 155:205-213.
- MEINTJES, R.A. and ENGELBRECHT, H., 2004. Changes in the renal handling of urea in sheep on a low protein diet exposed to saline drinking. *Ond. J. Vet. Res.* 71, 165-170.
- MERTENS, D.R. 1994. Regulation of forage intake. Pages 450-493 in *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*. G. C. Fahey, Jr., ed. American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Madison, WI.
- MEYER, U., EVERINGHOFF, M. GÄDEKEN, D. and FLACHOWSKY, G. 2004. Investigation on the water intake of lactating dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 90:117-121.
- MOORE, J.E., BRANT, M.H., KUNKLE, W.E. and HOPKINS, D.I. 1999. Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility and animal performance. *J. Anim. Sci.* 77:122-135.

- MORINE, S. J., DREWNOSKI, M. E. and HANSEN, S. L. 2014b. Increasing dietary neutral detergent fiber concentration decreases ruminal hydrogen sulfide concentrations in steers fed high-sulfur diets based on ethanol coproducts. *J. Anim. Sci.* 92:3035-3041.
- MORINE, S. J., DREWNOSKI, M. E., JOHNSON, A. K. and HANSEN, S. L. 2014a. Determining the influence of dietary roughage concentration and source on ruminal parameters related to sulfur toxicity. *J. Anim. Sci.* DOI: 10.2527/jas.2013-6925.
- MOULD, F.L., and ØRSKOV, E.R. 1983. Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in sacco, dry matter degradation and the ruminal microflora of sheep offered either hay or concentrate. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 10: 1–14.
- MURPHY, M. R., DAVIS, C. L. and MCCOY G. C. 1983. Factors affecting water consumption by Holstein cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 66:35-38.
- NEVILLE B. W., LARDY, G. P., KARGES, K. K., KIRSCHTEN, L.A., and SCHAUER C. S. 2011. Sulfur Intake, Excretion, and Ruminal Hydrogen Sulfide Concentrations in Lambs Fed Increasing Concentrations of Distillers Dried Grains with Solubles. *Sheep&Goat Res. J.* 26: 13-19.
- NICHOLS, C. A., BREMER, V. R., WATSON, A. K., BUCKNER, C. D., HARDING, J. L., ERICKSON, G. E., KLOPFENSTEIN, T. J. and SMITH, D. R. 2013. The effect of sulfur and use of ruminal available sulfur as a model to predict incidence of polioencephalomalacia in feedlot cattle. *Bovine Practitioner.* 47:47-53.
- NRC. 2016. Nutrient requirements of beef cattle. 8th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- NRC. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Natl. Acad. Press, Washington DC.
- NRC. 2000. Nutrient requirements of beef cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

- NRC. 1996. Nutrient Requirements of Beef Cattle. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- NRC. 1985. Ruminant Nitrogen Usage. Natl. Acad. Press. Washing-ton, DC.
- PATTERSON, T. AND JOHNSON, P. 2003. Effects of Water Quality on Beef Cattle. Range Beef Cow Symposium. Paper 63.
- PATTERSON, H.H., JOHNSON, P.S. and EPPERSON, W.B. 2003. Effect of total dissolved solids and sulfates in drinking water for growing steers. In Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science. Vol.54.
- PAULINO, M.F., DETMANN, E., VALENTE, E.E.L., Y BARROS, L.V. 2008. Nutrição de bovinos em pastejo. In: Proceedings of the 4th Symposium on Strategic Management of Pasture, Viçosa, Brazil. pp. 131–169.
- PEIRCE, A. W. 1960. Studies on salt tolerance of sheep. III. The tolerance of sheep for mixtures of sodium chloride and sodium sulphate in the drinking water. Aust. J. Agric. Res. 11: 548-56.
- PEIRCE, A. W. 1957. Studies on salt tolerance of sheep. I. The tolerance of sheep for sodium chloride in the drinking water. Crop and Pasture Sci. 8:711-722.
- RAY, D. E. 1989. Interrelationships among water quality, climate and diet on feedlot performance of steer calves. J. Anim. Sci. 67:357-363.
- REIS, R.B., EMETERIO, F.S., COMBS, D.K., SATTER, L.D., and COSTA, H.N. 2001. Effects of Corn Particle Size and Source on Performance of Lactating Cows Fed Direct-Cut Grass-Legume Forage. J. Dair. Sci. 84: 429–441.

- REYNOLDS, C.K and KRISTENSEN, N.B. 2008. Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: An asynchronous symbiosos. *J. Anim. Sci.* 86:E293-E305.
- RIAZ, M. Q., SUDEKUM, K.H., CLAUSS, M. y JAYANEGARA, A. 2014. Voluntary feed intake and digestibility of four domestic ruminant species as influenced by dietary constituents: A meta- analysis. *Livest. Sci* 162:75-85.
- RICHTER, E. L. 2011. The effect of dietary sulfur on performance, mineral status, rumen hydrogen sulfide, and rumen microbial populations in yearling beef steers. MS Thesis. Iowa State University, Ames, IA.
- RITTENHOUSE, L.R., CLANTON, D.C., Y STREETER, C.L. 1970. Intake and Digestibility of Winter-Range Forage by Cattle with and without Supplements. *J. Anim. Sci.* 31: 1215.
- RUNDGREN, M., JONASSON, H. and HJELMQVIST, H. 1990. Water intake and changes in plasma and CSF composition in response to acute administration of hypertonic NaCl and water deprivation in sheep. *Acta Physiol. Scand.* 138:85-92.
- SALISBURY, M. W., KREHBIEL, C.R., ROSS, T.T., SCHULTZ, C.L. and MELTON, L.L. 2004. Effects of supplemental protein type on intake, nitrogen balance, and site, and extent of digestion in whiteface wethers consuming low-quality grass hay. *J. Anim. Sci.* 82:3567-3576.
- SANSON, D. W., CLANTON D.C., and RUSH I.G. 1990. Intake and digestion of low- quality meadow hay by steers and performance of cows on native range when fed protein supplements containing various levels of corn. *J. Anim. Sci.* 68:595.

- SARI, M., FERRET, A. and CALSAMIGLIA, S. 2015. Effect of pH on in vitro microbial fermentation and nutrient flow in diets containing barley straw or non-forage fiber sources. *Animal Feed Sci. and Tech.* 200:17–24.
- SCHAUER, C.S., VAN EMON, M.L., THOMPSON, M.M., BOHNERT, D.W., CATON, J.S. y SEDIVEC, K.K. 2010. Protein supplementation of low-quality forage: Influence of frequency of supplementation on ewe performance and lamb nutrient utilization. *Sheep&Goats Res. J.* 25:66-73.
- SCHROEDER, G.F., TITGEMEYER, E.C., AWAWDEH, M. S., SMITH, J. S, and GNAD, D. P. 2006a. Effects of energy level on methionine utilization by growing steers. *J. Anim. Sci.* 84:1497–1504
- SILANIKOVE, N. 2000. The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments. *Small Rumin. Res.* 35: 181-193
- SOUZA, M.A., DETMANN, E., PAULINO, M.F., SAMPAIO, C.B., LAZZARINI, I., Y VALADARES FILHO, S.C., 2010. Intake, digestibility, and rumen dynamics of neutral detergent fiber in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogen and/or starch. *Trop. Anim. Health Prod.*, 42: 1299-1310.
- SPEK, J.W., BANNINK,A., GORT,G., HENDRIKS, W.H. and DIJKSTRA, J. 2012. Effect of sodium chloride intake on urine volume, urinary urea excretion, and milk urea concentration in lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 95:7288–7298.
- STEELE, J. D., BANTA, J.P., WETTEMANN, R.P., KREHBIEL, C.R. and LALMAN, D.L. 2007. Drought-stressed soybean supplementation for beef cows. *Prof. Anim. Sci.*, 23: 358–365.
- STEFAN, C.C. 2013. Effect of protein supplement sources on intake and digestion of steers fed low-quality forage. Texas A&M University.

- SWANSON, K.C., FREELY, H.C. and FERRELL, C.L. 2004. Nitrogen balance in lambs fed low-quality brome hay and infused with differing proportions of casein in the rumen and abomasum. *J.Anim.Sci.*82: 502-507.
- TJARDES, K.E., PATTERSON, H.H. and ROPS, B.D. 2004. Effects of supplying water with varying levels of total dissolved solids and sulfates to steers during the growing period on subsequent finishing performance. In *Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science*. Vol.55.
- UTLEY, P. R., BRADLEY, N.W. and BOLING, J.A. 1970. Effect of restricted water intake on feed intake, nutrient digestibility and nitrogen metabolism in steers. *J. Anim. Sci.* 31:130–135.
- UWITUZE, S., PARSONS, G. L., KARGES, K. K., GIBSON, M. L., HOLLIS, L. C., HIGGINS, J. J. and DROUILLARD, J. S. 2011. Effects of distillers grains with high sulfur concentration on ruminal fermentation and digestibility of finishing diets. *J. Anim. Sci.* 89:2817-2828.
- VAN DER WALT, J.G., BOOMKER, E.A. and MEINTJES, A. 1999. Effect of water intake on the nitrogen balance of sheep fed low or a medium protein diet. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 29:105-119.
- VAN SOEST, P.J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2nd Edition, Cornell University Press, Ithaca, 476.
- VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B. and LEWIS, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583–3597.

- WEETH, H. J. and CAPPS, D. L. 1972. Tolerance of Growing Cattle for Sulfate-Water
J. Anim. Sci. 34:256–260.
- WEETH, H. J., and HUNTER, J.E. 1971. Drinking of sulfate-water by cattle. J. Anim. Sci. 32:277–281.
- WEETH, H. J., HAVERLAND, L.H. and CASSARD, D.W. 1960. Consumption of Sodium Chloride
Water by Heifers. J. Anim. Sci. 19:845–851.
- WICKERSHAM, T.A., TITGEMEYER, E.C., COCHRAN, R.C., WICKERSHAM, E.E. and GNAD, D.P.
2008. Effect of rumen-degradable intake protein supplementation on urea kinetics and
microbial use of recycled urea in steers consuming low-quality forage. J. Anim. Sci.
86:3079-3088.
- WICKERSHAM, T.A., COCHRAN, R.C., TITGEMEYER, E.C., FARMER, C.G., KLEVESAHL, E.A.,
ARROQUY, J.I., JOHNSON, D.E., and GNAD, D.P., 2004. Effect of postruminal protein
supply on the response to ruminal protein supplementation in beef steers fed a low-
quality grass hay. Anim. Feed Sci. Tech. 155, 19-36.
- WILSON, J.R., 1994. Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. J. Agric.
Sci. 122, 173–182.
- WILSON, A.D. and DUDZINSKI, M.L. 1973. Influence of the concentration and volume of saline
water on the food intake of sheep, and on their excretion of sodium and water in urine
and faeces. Aust. J. agric. Res. 24: 245-56.
- WILSON, A. D. 1966. The tolerance of sheep to sodium chloride in food or drinking water. Aust. J.
Agric. Res. 17:503-514.

- YIRGA, H., R.PUCHALA, R., TSUKAHARA, Y., TESFAI, K., SAHLU, T., MENGISTU, U.L. and GOETSCH, A.L. 2018. Effects of level of brackish water and salinity on feed intake, digestion, heat energy, ruminal fluid characteristics, and blood constituent levels in growing Boer goat wethers and mature Boer goat and Katahdin sheep wethers. *Small Rumin. Res.*164:70-81.
- YOUSFI, I., SALEM, H. B., AOUADI, D. and ABIDI, S. 2016. Effect of sodium chloride, sodium sulfate or sodium nitrite in drinking water on intake, digestion, growth rate, carcass traits and meat quality of Barbarine lamb. *Small Rumin. Res.* 143:43-52.
- ZINN, R.A., ALVAREZ, E., MENDEZ, M., MONTAÑO, M., RAMIREZ, E. and SHEN, Y. 1997. Influence of Dietary Sulfur Level on Growth Performance and Digestive Function in Feedlot Cattle. *J. Anim. Sci.*75:1723–1728.

*“El fin de todo discurso oído es este: Teme a Dios, y guarda sus mandamientos; porque esto es
el todo del hombre.”*

Eclesiastés 12:13 (RVR 1986)