



Universidad Nacional del Sur

**ESTRATEGIAS EXPERIENCIALES Y
SUPLEMENTARIAS PARA
MITIGAR LOS EFECTOS NEGATIVOS
DEL CONSUMO DE AGUA
SALOBRE EN RUMIANTES**

Tesis presentada para optar al grado de
DOCTOR EN AGRONOMÍA

AGUSTÍN LÓPEZ
Bahía Blanca - Argentina

2018



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

**ESTRATEGIAS EXPERIENCIALES Y SUPLEMENTARIAS
PARA MITIGAR LOS EFECTOS NEGATIVOS DEL
CONSUMO DE AGUA SALOBRE EN RUMIANTES**

Tesis presentada para optar al grado de
DOCTOR EN AGRONOMÍA

AGUSTÍN LÓPEZ

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

2018

Prefacio

Esta tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Agronomía, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el INTA EEA-Santiago del Estero y la Universidad Nacional de Santiago del Estero durante el período comprendido entre abril de 2010 y diciembre 2017, bajo la dirección de los doctores Roberto A. Distel y José I. Arroquy.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el 30./10./2018, mereciendo la calificación de 10 (sobresaliente)

Agradecimientos

Deseo expresar mi más grande agradecimiento al Dr. José I. Arroquy, por su constante y desinteresado apoyo y enseñanza tanto dentro como fuera del ámbito académico a lo largo de estos años. Haber sido su alumno representa un profundo orgullo para mí.

Quiero expresar de manera especial y sincera mi agradecimiento al Dr. Roberto A. Distel, por su confianza en mi trabajo. Su capacidad para guiar mis ideas ha sido un aporte invaluable.

Agradezco a la Dra. Mónica Nazareno y a la Dra. Mariana García por brindarme su apoyo y permitirme realizar parte de este trabajo en su laboratorio.

Extiendo el agradecimiento a todos mis compañeros y amigos del laboratorio de Suelos y Forrajes del INTA Santiago del Estero. Especialmente quiero agradecer a Héctor Fissolo por su extraordinaria e incondicional predisposición para colaborar en los ensayos. A Ana Juárez Sequeira, por su paciencia en las largas charlas de oficina planificando los ensayos y por su ayuda en el trabajo de laboratorio. A Salvador Prieto y Néstor Gómez por brindarme su apoyo y consejos para seguir adelante.

Finalmente, quiero expresar mi agradecimiento a mi señora Claudia, a mis hijos Valentina y Joaquín y a toda mi familia por su permanente amor y motivación. Sin ellos no hubiese sido posible llegar hasta aquí.

RESUMEN

Se realizaron una serie de estudios para explorar dos estrategias como alternativas para mejorar el comportamiento de rumiantes cuando consumen aguas de bebida con elevados tenores salinos. Una de las estrategias estuvo guiada por la hipótesis que la exposición temprana de rumiantes a aguas con elevados tenores salinos promueve el desarrollo de tolerancia a aguas de bebida con altas concentraciones de sales. Para la prueba de hipótesis se realizaron dos experimentos con vacunos, exponiendo a los animales a uno de 2 tratamientos: exposición temprana a agua de elevado tenor salino [post natal temprana (Exp. 1); último mes de gestación y post natal temprana (Exp. 2)] o a agua de bajo tenor salino. Posterior al período de exposición, y luego de una etapa de recría, se evaluó durante 30 d el consumo y digestibilidad del alimento, parámetros sanguíneos y ganancia de peso de los terneros de ambos tratamientos al ofrecerles nuevamente agua salobre. Bajo las condiciones de este estudio no se encontró evidencia de que la exposición temprana a agua con elevado tenor salino mejore la tolerancia y el desempeño posterior en ganado vacuno para carne. Sin embargo, el consumo de agua reducido (Exp. 1) y el incremento en el umbral de sed (Exp. 2) de los animales expuestos tempranamente al agua salada requiere mayor consideración.

La segunda estrategia evaluada estuvo guiada por la hipótesis que el nivel de suplementación proteica requerido para maximizar la utilización de forrajes de baja calidad es mayor cuando el ganado bebe agua salobre. Para ello se realizaron 2 estudios utilizando harina de soja (HS) como fuente proteica y heno de pastura tropical (*Megathyrsus maximus*, cv. Gatton panic) como forraje de baja calidad. El estudio 1 se llevó a cabo con novillos fistulados de rumen, y los tratamientos resultaron de la combinación de 2 calidades de agua (TSB = tenor salino bajo; TSA = tenor salino alto) y 3 niveles de HS (0%; 0,2% y 0,4% PV/d). El estudio 2 se realizó con corderos ubicados en jaulas metabólicas individuales, y los tratamientos resultaron de la

combinación de 2 calidades de agua (TSB = tenor salino bajo; TSA = tenor salino alto) y 5 niveles de HS (0; 0,25; 0,50; 0,75 y 1,0% PV/d). Los resultados obtenidos permiten concluir que se requiere de mayores niveles de suplementación proteica para maximizar el consumo de nutrientes y la utilización del N en animales consumiendo forrajes de baja calidad y aguas con elevado tenor salino.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Lista de tablas.....	iii
Lista de figuras.....	V
Lista de abreviaturas.....	Vi
Capítulo I: Revisión bibliográfica.....	1
1. Introducción.....	1
2. Impacto de aguas de bebida con elevados tenores salinos.....	3
2.1. Consumo de alimento en rumiantes.....	3
2.2. Consumo de agua en rumiantes.....	6
2.3. Metabolismo ruminal.....	11
2.3.1. Digestibilidad del alimento.....	11
* <i>In vitro</i>	11
* <i>In vivo</i>	12
2.3.2. Parámetros ruminales.....	14
* Ácidos grasos volátiles y tasa de dilución.....	14
* Población microbiana.....	17
2.4. Respuesta animal.....	18
3. Alternativas para mejorar la utilización de aguas de bebida con elevados tenores salinos en rumiantes.....	26
3.1. Exposición temprana.....	26
3.2. Suplementación proteica.....	28
4. Bibliografía.....	31
5. Hipótesis.....	44
6. Objetivos.....	44
Capítulo II: Exposición temprana a agua salada y desempeño posterior del ganado de carne.....	45
1. Resumen.....	45
2. Introducción.....	46
3. Materiales y Métodos.....	47
3.1. Diseño experimental.....	47
3.2. Muestreo y mediciones.....	50
3.3. Procesamiento de las muestras y análisis de laboratorio.....	51
3.4. Análisis estadístico.....	52
4. Resultados.....	52
4.1. Experimento 1.....	52
4.1.1. Ganancia de peso vivo.....	52
4.1.2. Consumo y digestibilidad del alimento.....	52
4.1.3. Indicadores hematológicos, glucosa y minerales séricos.....	53
4.2. Experimento 2.....	53
4.2.1. Ganancia de peso vivo.....	53
4.2.2. Tasa de consumo de agua después de la privación al consumo de agua.....	53
4.2.3. Consumo y digestibilidad del alimento.....	53
4.2.4. Indicadores hematológicos, glucosa y minerales séricos.....	54
4.2.5. Actividad renina plasmática.....	54
5. Discusión.....	54
6. Conclusión.....	58

7. Bibliografía.....	59
Capítulo III: Efecto de la suplementación proteica sobre la utilización de forraje de baja calidad en novillos bebiendo agua salada.....	67
1. Resumen.....	67
2. Introducción.....	68
3. Materiales y Métodos.....	69
3.1. Diseño experimental.....	69
3.2. Muestreo y mediciones.....	70
3.3. Procesamiento de las muestras y análisis de laboratorio.....	71
3.4. Análisis estadístico.....	73
4. Resultados.....	74
4.1. Consumo de alimento y agua.....	74
4.2. Digestibilidad del alimento.....	74
4.3. Contenido ruminal y tasa de pasaje.....	75
4.4. Perfil de fermentación ruminal.....	75
4.5. Nitrógeno ureico en plasma.....	75
5. Discusión.....	75
6. Conclusión.....	82
7. Bibliografía.....	82
Capítulo IV: La ingesta de agua con elevadas concentraciones de sulfatos determina el consumo y la respuesta metabólica en corderos consumiendo forraje de baja calidad.....	93
1. Resumen.....	93
2. Introducción.....	94
3. Materiales y Métodos.....	95
3.1. Diseño experimental.....	96
3.2. Muestreo y mediciones.....	96
3.3. Procesamiento de las muestras y análisis de laboratorio.....	97
3.4. Análisis estadístico.....	98
4. Resultados.....	99
4.1. Consumo de alimento y agua.....	99
4.2. Digestibilidad del alimento.....	100
4.3. Balance de Nitrógeno.....	100
4.4. Nitrógeno ureico en plasma.....	101
4.5. Producción de orina y función renal.....	101
4.6. Consumo de azufre y concentración ruminal de H ₂ S.....	101
5. Discusión.....	102
6. Conclusión.....	106
7. Bibliografía.....	107
Capítulo V: Síntesis, implicancias y proyecciones.....	117

LISTA DE TABLAS

CAPÍTULO I: Revisión bibliográfica.

Tabla 1. Influencia de sales sobre la concentración de ácidos grasos volátiles ruminales (AGV) y tasa de dilución del líquido ruminal.....	22
--	----

CAPÍTULO II: Exposición temprana a agua salada y desempeño posterior del ganado de carne

Tabla 1. Consumo de MS (CMS) y agua (CA), relación CA : CMS y digestibilidad de la MS total (DMS) de terneros con (ETAS) o sin (ETBS) experiencia temprana con agua de bebida salada.....	62
Tabla 2. Parámetros sanguíneos de terneros con (ETAS) o sin (ETBS) experiencia temprana con agua de bebida salada.....	63
Tabla 3. Actividad de la renina plasmática (ARP) de terneros con (ETAS) o sin (ETBS) experiencia temprana con agua de bebida salada (Exp. 2).....	64

CAPÍTULO III: Efecto de la suplementación proteica sobre la utilización de forrajes de baja calidad en novillos bebiendo agua salada

Tabla 1. Composición química del heno de forraje y de la harina de soja.....	87
Tabla 2. Sólidos totales disueltos y contenido mineral en el agua de bebida.....	87
Tabla 3. Efectos de la suplementación con harina de soja (HS; 0, 0,2, 0,4 % PV) y la calidad del agua de bebida sobre el consumo de MO del forraje (CMOF), consumo de MO total (CMOT), consumo de fibra detergente neutro total (CFDNT), consumo de MO total digestible (CMOTD), consumo de fibra detergente neutro total digestible (CFDNTD), consumo de agua (CA) y la relación CA : CMOT, en novillos alimentados con forraje de baja calidad.....	88
Tabla 4. Efectos de la suplementación con harina de soja (HS; 0, 0,2, 0,4 % PV) y la calidad del agua sobre la digestibilidad de la MO total (DMOT), digestibilidad de la fibra detergente neutro total (DFDNT), contenido ruminal y tasa de pasaje, en novillos alimentados con forraje de baja calidad.....	89
Tabla 5. Efectos de la suplementación con harina de soja (HS; 0, 0,2, 0,4 % PV) y la calidad del agua sobre el pH ruminal, amonio ruminal, nitrógeno ureico plasmático (NUP), concentración y proporciones de AGV ruminales, en novillos alimentados con forraje de baja calidad.....	90

CAPÍTULO IV: La ingesta de agua con elevadas concentraciones de sulfatos determina el consumo y las respuestas metabólicas en corderos consumiendo forrajes de baja calidad

Tabla 1. Sólidos totales disueltos y contenido mineral en el agua de bebida.....	112
Tabla 2. Composición química del heno y de la harina de soja.....	112
Tabla 3. Efecto de la harina de soja (HS) y la calidad del agua sobre el consumo de agua (CA), el consumo MO del forraje (CMOF), consumo MO total (CMOT), consumo FDN total (CFDNT), consumo MO total digestible (CMOTD), consumo FDN total digestible (CFDNTD), digestibilidad MO total (DMOT) y sobre la digestibilidad FDN total (DFDNT) en corderos alimentados con heno de forraje de baja calidad.....	113

Tabla 4. Efecto de la harina de soja (HS) y la calidad del agua sobre el consumo diario de nitrógeno (N), excreción fecal y urinaria de N, y balance de N en corderos alimentados con heno de forraje de baja calidad.....	114
Tabla 5. Efecto de la harina de soja (HS) y la calidad del agua sobre la producción de orina, nitrógeno ureico plasmático (NUP), concentración de urea urinaria (CUU), urea urinaria como porcentaje del nitrógeno total urinario (UU/NTU), reabsorción de urea por los riñones (Reabs. urea), y tasa de filtración glomerular (TFG) en corderos alimentados con heno de forraje de baja calidad.....	115
Tabla 6. Efecto de la harina de soja (HS) y la calidad del agua sobre el consumo de azufre a través del agua de bebida (CSA), consumo de azufre total (CST), concentración ruminal de sulfuro de hidrógeno (H ₂ S) en corderos alimentados con heno de forraje de baja calidad.....	116

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I: Revisión bibliográfica.

Figura 1. Efecto de la concentración de sólidos totales disueltos en el agua (STD) sobre el consumo alimento (CMS) en bovinos y ovinos.....	5
Figura 2. Efecto de aguas de bebida con predominancia de cloruro de sodio (NaCl) o sulfatos (SO_4^{2-}) sobre el consumo de alimento (CMS) en bovinos.....	6
Figura 3. Efecto de la concentración de sólidos totales disueltos en el agua de bebida (STD) sobre el consumo de agua (CA) en bovinos y ovinos.....	8
Figura 4. Efecto de aguas de bebida con predominancia de cloruro de sodio (NaCl) o sulfatos (SO_4^{2-}) sobre el consumo de agua (CA) en bovinos.....	10
Figura 5. Respuesta en la digestibilidad de la materia seca (DMS) ante incrementos en el consumo de cloruro de sodio (NaCl).....	13
Figura 6. Efecto del aumento en el flujo del líquido ruminal como consecuencia del agregado de sales sobre la relación acético : propiónico.....	16
Figura 7. Efecto de la concentración de sólidos totales disueltos en el agua (STD) sobre el aumento medio diario (AMD) y su relación con el consumo de alimento (CMS) en bovinos.....	19
Figura 8. Efecto de la concentración de sólidos totales disueltos en el agua (STD) sobre la eficiencia de conversión alimenticia en bovinos.....	21
Figura 9. Esquema del sistema renina-angiotensina.....	28

CAPÍTULO II: Exposición temprana a agua salada y desempeño posterior del ganado de carne

Figura 1. Consumo de agua (CA) después de 20 h de privación al consumo de agua de terneros con (ETAS) o sin (ETBS) experiencia temprana con agua de bebida salada (Exp. 2).....	65
---	----

CAPÍTULO III: Efecto de la suplementación proteica sobre la utilización de forraje de baja calidad en novillos bebiendo agua salada

Figura 1. Efecto de la calidad del agua sobre la concentración de amonio ruminal después del suministro de 3 niveles de suplementación con harina de soja (HS): 0, 0,2, y 0,4% PV/d.....	91
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

A : P	Relación acético : propiónico.
AGV	Ácidos grasos volátiles.
AMD	Aumento medio diario.
Ang II	Angiotensina II.
ARP	Actividad de la renina plasmática.
BRS	Bacterias reductoras de sulfatos.
CA	Consumo de agua.
CFDNT	Consumo de fibra detergente neutro.
CFDNTD	Consumo de fibra detergente neutro total digestible.
CIDA	Ceniza insoluble en detergente ácido.
CMOF	Consumo de materia orgánica del forraje.
CMOT	Consumo de materia orgánica total.
CMOTD	Consumo de materia orgánica total digestible.
CMS	Consumo de materia seca.
CSA	Consumo de azufre a través del agua de bebida.
CST	Consumo de azufre total.
CUU	Concentración de urea en orina.
DFDNT	Digestibilidad de la fibra detergente neutro total.
DMOT	Digestibilidad de la materia orgánica total.
DMS	Digestibilidad de la materia seca total.
EN	Energía neta.
ETAS	Exposición temprana a agua con elevado tenor salino.
ETBS	Exposición temprana a agua con bajo tenor salino.
HS	Harina de soja.
NUP	Nitrógeno ureico plasmático.
PDR	Proteína degradable en rumen.
PEM	Polioencefalomalacia.
SA	Nivel de sulfato alto en el agua de bebida.
SB	Nivel de sulfato bajo en el agua de bebida.
SRA	Sistema renina-angiotensina.

STD	Sólidos totales disueltos.
TFG	Tasa de filtración glomerular.
TSA	Tenor salino alto.
TSB	Tenor salino bajo.
UU/NTU	Urea urinaria como porcentaje del nitrógeno total urinario.

CAPÍTULO I: Revisión bibliográfica

1. Introducción

El crecimiento acelerado de la población mundial, la cual se pronostica que se incremente un 30% para el año 2050 (FAO, 2011a), derivará en un aumento en la demanda de alimentos del 70% para los próximos 40 años (Molden y col., 2007). Al mismo tiempo, para sostener este crecimiento, los recursos naturales (agua y tierra) pilares de la producción primaria de alimentos se encuentran bajo presión y resultan limitados (FAO, 2011b). En este escenario el sector agropecuario debe enfrentar el desafío de producir más y mejor con recursos cada vez más escasos y vulnerables a los procesos de degradación y cambio climático (Behnassi y col., 2014; Jiménez Cisneros y col., 2014).

Los rumiantes cumplen un rol trascendental en satisfacer la demanda de alimentos debido a su capacidad de transformar recursos de escaso valor nutricional (ej. forrajes, subproductos de la industria, etc.) en proteína animal de alto valor biológico aprovechable por los seres humanos. Sin embargo, a pesar de que los productos pecuarios proporcionan un tercio de la proteína consumida, también utilizan un tercio del agua que la agricultura emplea a nivel mundial (Herrero y col., 2009).

Como consecuencia la escasez de agua tanto en cantidad como en calidad se ha acentuado (Legesse y col., 2017), y la viabilidad de la producción animal en el futuro dependerá en gran medida de una eficiente administración del recurso agua. Con un incremento en la demanda de productos de origen animal, mejorar la productividad del agua para uso ganadero resulta esencial (Descheemaeker y col., 2010).

El agua, después del oxígeno, es considerado el nutriente más importante para el crecimiento, lactación y reproducción de los rumiantes (NRC 2016). En los mamíferos, alrededor del 99% de todas las moléculas del organismo son moléculas de agua (Macfarlane y Howard, 1972). Dado que el consumo de agua y de alimento se relacionan en forma directa (Utley y col.,

1970; Bond y col., 1975), el suministro adecuado de agua de buena calidad es esencial para evitar efectos perjudiciales sobre la salud y productividad animal (Meyer y col., 2004; Kume y col., 2010). No obstante, la escasez de agua prevista a futuro determinaría un incremento en la utilización de aguas de baja calidad (ej. aguas salobres) en la producción ganadera.

La calidad del agua es un término general utilizado para describir las propiedades físicas, bacteriológicas y químicas que determinan la aptitud del agua para un determinado propósito. En el caso de agua destinada al consumo animal, el exceso de sales (principalmente cloruros y sulfatos) a menudo limita la producción animal en distintas partes del mundo. A pesar de no estar bien definidos y de existir cierta controversia sobre los niveles máximos tolerables, en términos generales el NRC (2016) establece que aguas con niveles inferiores a 5000 mg/l de sólidos totales disueltos (STD) y 1000 mg/l como sulfatos (SO_4^-) no afectarían la productividad de bovinos para carne. En Argentina, el agua subterránea constituye la principal fuente para el consumo de los bovinos, y en muchas ocasiones supera ampliamente los umbrales recomendados, representando una de las principales limitantes para el desarrollo ganadero. Por lo tanto, resulta valioso estudiar y entender como aguas con concentraciones de sales superiores a los umbrales reportados como tolerables puedan ser aprovechadas y aceptadas por los rumiantes sin comprometer la salud, el bienestar y la productividad animal (Beede, 2012).

Si bien existen trabajos que abordaron el agua de bebida como temática central de estudio, resultan sustancialmente inferiores si se los compara a los realizados sobre otros nutrientes (i.e. carbohidratos, proteínas, lípidos). En la actualidad el esfuerzo dirigido al desarrollo de investigaciones básicas para la generación de conocimiento sobre modos y mecanismos que permitan una utilización más eficiente del agua de bebida es escasa, debido posiblemente a que tradicionalmente ha sido considerada como un recurso de escaso valor, fácilmente disponible y renovable (Brew y col., 2011; NRC 2016).

En el marco de los antecedentes presentados, el objetivo general del presente trabajo de tesis fue estudiar las potencialidades de dos estrategias, como alternativas para mejorar la utilización de aguas de bebida con elevados contenidos de sales por los rumiantes. La primera estrategia evaluada fue la exposición temprana, la cual se basa en el concepto de que cualquier estímulo o estrés que el animal experimente a una edad temprana (pre y/o postnatal) tiene el potencial de generar alteraciones morfológicas y fisiológicas de carácter persistentes, permitiéndole al animal adaptarse mejor a las condiciones en las cuales fue criado. Con una componente más nutricional, la segunda estrategia estuvo relacionada con la suplementación proteica como una herramienta para mejorar la utilización de forrajes de baja calidad en rumiantes consumiendo aguas con altas concentraciones de sales.

2. Impacto de aguas de bebida con elevados tenores salinos

2.1. Consumo de alimento en rumiantes

Los trabajos publicados informan reducciones en el consumo de alimento como consecuencia de la ingesta de aguas con elevados tenores salinos (Weeth y Haverland, 1961; Weeth y col., 1968; Weeth y Hunter, 1971; Weeth y Capps, 1972; Digesti y Weeth, 1976; Patterson y col., 2002; Patterson y col., 2003; Ward y Patterson, 2004; Cammack y col., 2010). Sin embargo, algunos autores no reportan efectos sobre el consumo (Kattnig y col., 1992; Assad y col., 1997; Sexson y col., 2010; Yousfi y col., 2016) o incluso hasta muestran pequeños incrementos (Sager y Casagrande, 1998; Attia-Ismail y col., 2008; Visscher y col., 2013). Dicha variabilidad se debería al menos en parte a las diferentes condiciones en las que los estudios fueron realizados. Factores como el tipo predominante de sal disuelta, el volumen de agua consumido por día, la calidad nutricional de la dieta ofrecida, las características climáticas, y el animal influyen en la magnitud de la alteración provocada por las elevadas concentraciones de sales en el agua de bebida sobre el consumo de alimento.

Un resumen del efecto de aguas de bebida con elevados tenores salinos relativo al control sobre el consumo de alimento es presentado en la Figura 1. En 40 de 59 comparaciones observadas, el consumo de MS (CMS) fue negativamente afectado en respuesta niveles crecientes de sales en el agua de bebida. En promedio, concentraciones de 6000 y 15000 mg/l STD en el agua de bebida redujeron un 10% el CMS en bovinos y ovinos respectivamente, indicando una mayor tolerancia de estos últimos a aguas salobres (Master y col., 2007). Sin embargo, se debe tener en cuenta que de los 4 trabajos analizados en ovinos solo 1 contenía sulfatos en el agua de bebida, mientras que en bovinos 12 de un total de 17 estudios incluían sulfatos, lo cual puede haber afectado las magnitudes de las respuestas observadas en el CMS.

Aguas con elevadas concentraciones de sales pueden alterar el rendimiento y/o la salud del animal básicamente porque provocan una disminución en el consumo de agua y alimento, toxicidad de ciertos elementos minerales (ej. azufre) y porque inducen a deficiencias secundarias de minerales (ej. cobre). No obstante, los mecanismos fisiológicos por los cuales aguas con elevados tenores salinos reducen el consumo de alimento no han sido totalmente dilucidados aún. Se sabe que una hipertonicidad sistémica puede afectar los centros cerebrales que controlan el consumo (Forbes y Barrio, 1992; Silanikove, 1992; Burgos y col., 2000). A su vez la sed – definida como la motivación a beber líquidos – provocada por una deshidratación celular, debido al aumento de la osmolaridad plasmática (Fitzsimons, 1998; McKinley y Johnson, 2004) como consecuencia de una ingesta excesiva de sales, estaría relacionada fisiológicamente con la disminución en el consumo de alimento. Al respecto, Prasetiyono y col. (2000) reportaron una correlación negativa entre los niveles de sed y el consumo de alimento en cabras privadas de agua por hasta 46 h. En contraste, aguas de bebida de moderada a baja salinidad pueden estimular el CMS debido al aporte beneficioso que determinados minerales (i.e., Na, K, Mg, S) tienen sobre el consumo y digestibilidad de los alimentos (NRC, 2016).

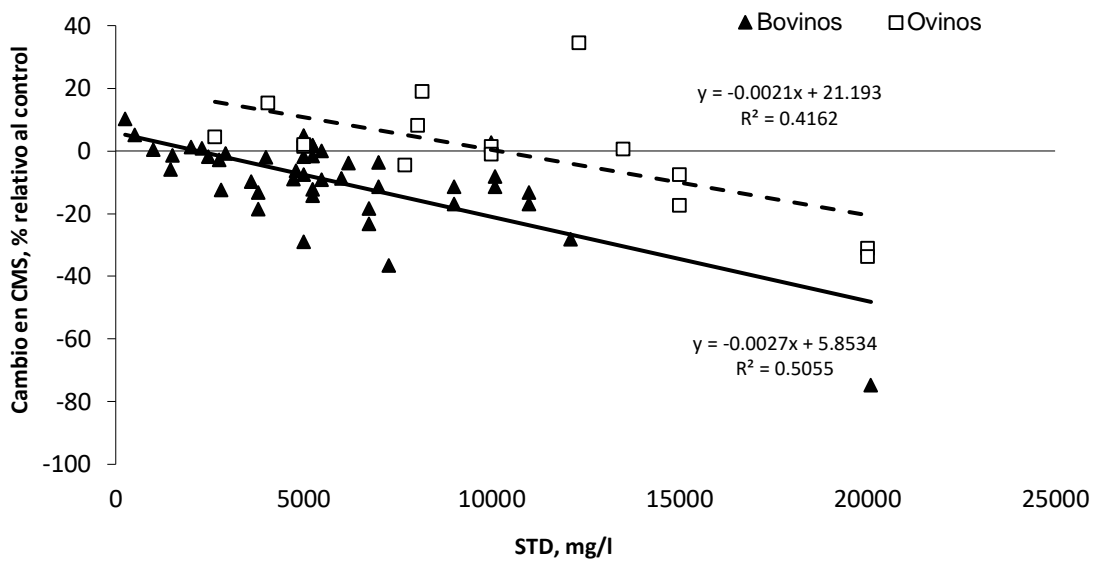


Figura 1. Efecto de la concentración de sólidos totales disueltos en el agua (STD) sobre el consumo alimento (CMS) en bovinos y ovinos. (Base de datos: Weeth y col., 1960; Weeth y Haverland, 1961; Wilson, 1966; Weeth y col., 1968; Weeth y Hunter, 1971; Weeth y Capps, 1972; Digesti y Weeth, 1976; Saul y Flinn, 1985; Ray, 1989; Kattnig y col., 1992; Assad y col., 1997; Sager y Casagrande, 1998; Loneragan y col., 2001; Patterson y col., 2002, 2003; Ward y Patterson, 2004; Attia-Ismail y col., 2008; Cammack y col., 2010; Sexson y col., 2010; Visscher y col., 2013; Yousfi y col., 2016).

Es importante tener en cuenta que no todas las sales ejercen los mismos efectos. El NaCl es menos nocivo que las sales formadas por el ión SO_4^{2-} , como es el caso del sulfato de sodio (Na_2SO_4) y sulfato de magnesio (MgSO_4). Weeth y Hunter (1971) informaron consumos de alimento de 97% y 70% respecto al control en vaquillonas a las cuales se les había ofrecido aguas con 4.100 mg/l NaCl y 5.000 mg/l Na_2SO_4 , respectivamente. Como se puede observar en la Figura 2, a igual concentración de STD las aguas con predominancia de sulfatos reducen en mayor grado el CMS en comparación a aguas con presencia de cloruros solamente. Además de lo comentado previamente, el exceso de SO_4^{2-} en rumen puede conducir a una acumulación de sulfuro de hidrógeno (H_2S) afectando la motilidad ruminal (Bird, 1972; Kandyliis, 1984) con una consecuente reducción en el CMS (Loneragan y col., 2001; Uwituzze y col., 2011; Drewnoski y Hansen, 2013). En un trabajo reciente, Kessler y col. (2013) reportaron cambios en la expresión de genes hepáticos

involucrados en respuestas inflamatorias y el sistema inmune en novillos consumiendo aguas elevadas en sulfatos ($3.651 \text{ mg/l SO}_4^{2-}$). Los autores observaron reducciones 9% y 16% en el CMS y consumo de agua (CA), respectivamente, con respecto al tratamiento control, atribuyéndolo a cambios en el balance energético de los animales. 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).

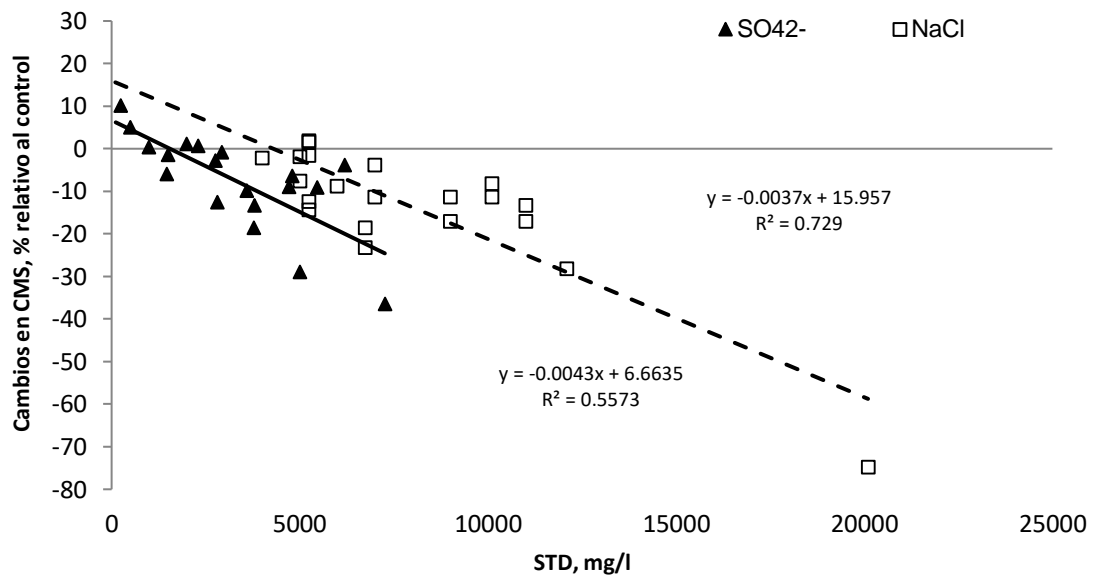


Figura 2. Efecto de aguas de bebida con predominancia de cloruro de sodio (NaCl) o sulfatos (SO_4^{2-}) sobre el consumo de alimento (CMS) en bovinos. Las aguas con sulfatos fueron consideradas como aquellas en donde el ión SO_4^{2-} representó más del 40% de STD. (Base de datos: Weeth y col., 1960; Weeth y Haverland, 1961; Weeth y col., 1968; Weeth y Hunter, 1971; Weeth y Capps, 1972; Digesti y Weeth, 1976; Saul y Flinn, 1985; Ray, 1989; Kattinig y col., 1992; Sager y Casagrande, 1998; Loneragan y col., 2001; Patterson y col., 2002, 2003; Ward y Patterson, 2004; Cammack y col., 2010; Sexson y col., 2010; Visscher y col., 2013).

2.2. Consumo de agua en rumiantes

El agua de bebida es el nutriente más importante para el ganado debido a que interviene en la mayoría de los procesos fisiológicos y se encuentra estrechamente relacionado al consumo de alimento (NRC, 2016). Tanto es así que una ingesta reducida de agua afecta negativamente el consumo de alimento por parte del animal. Por ejemplo, reducciones de un 20%

en el CMS fueron registradas cuando la oferta de agua se limitó a un 60% del consumo voluntario en novillos (Utley y col., 1970).

Los requerimientos de agua están influenciados por varios factores, destacándose fundamentalmente 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 y col., 1983; Arias y Mader, 2011). Sin embargo, en la actualidad la escasez de información dificulta determinar con exactitud la magnitud en que cada factor afecta el consumo de agua.

El contenido total de sales en el agua de bebida es un factor que puede alterar significativamente los requerimientos de agua del animal. En líneas generales se puede establecer que a medida que aumenta el contenido de sal en el agua se incrementa su consumo (Figura 3), debido a una necesidad del animal de eliminar a través de la orina las sales ingeridas en exceso (Church, 1988). Sin embargo, 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). Es por esto que 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).

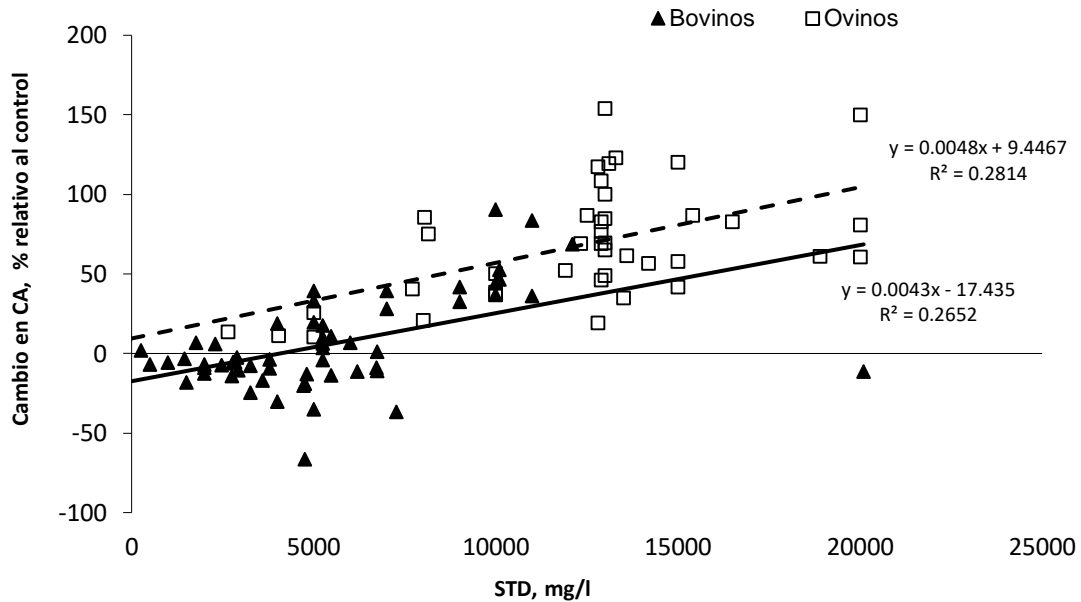


Figura 3. Efecto de la concentración de sólidos totales disueltos en el agua de bebida (STD) sobre el consumo de agua (CA) en bovinos y ovinos. (Base de datos: Peirce, 1957, 1959, 1960; Weeth y col., 1960; Peirce, 1962; Weeth y Haverland, 1961; Peirce, 1963; Weeth y Lesperance, 1965; Wilson, 1966; Weeth y col., 1968; Weeth y Hunter, 1971; Tomas y col., 1973; Digesti y Weeth, 1976; Dixon y Milligan, 1983; Saul y Flinn, 1985; Ray, 1989; Kattnig y col., 1992; Assad y col., 1997; Sager y Casagrande 1998; Zimmerman, 2003; Patterson y col., 2002, 2003; Johnson y col., 2004; Attia-Ismail y col., 2008; Cammack y col., 2010; Sexson y col., 2010; Visscher y col., 2013; Yousfi y col., 2016).

Como fue descrito anteriormente para el consumo de alimentos, el CA también depende del tipo de sal predominante en la fuente agua disponible para los animales. Peirce (1962) trabajando con ovejas a las cuales les ofreció agua con soluciones compuestas por distintos tipos de sales encontró que el CA se incrementó en proporciones diferentes de acuerdo al tipo de sal en solución. Por ejemplo, cuando el agua tenía 1,3% de NaCl el CA aumentó 100%, mientras que con un agua constituida por 0,98% NaCl + 0,3% CaCl₂ el CA aumentó solamente un 19%. Tomas y col. (1973) también registraron aumentos en el consumo de agua en ovejas con concentraciones de 0,8 y 1,3% de NaCl. El aumento en CA sería explicado por una elevación de la presión osmótica del agua corporal la cual es detectada por osmoreceptores (posiblemente sensibles al Na) ubicados en el hipotálamo y en otros sitios del organismo induciendo a un mayor consumo de

agua (Fitzsimons, 1998). Por otro parte, es sabido que los cloruros (i.e., NaCl, MgCl) son menos nocivos que los sulfatos (i.e., Na₂SO₄, MgSO₄). Tal es así que una concentración de 4.110 mg/l de NaCl incrementó el CA 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 (Weeth y Hunter, 1971). Una de las posibles razones del menor consumo de aguas sulfatadas es su menor palatabilidad. Las aguas con sulfatos, en particular, poseen un fuerte sabor amargo (MgSO₄ > Na₂SO₄ > NaCl). Goatcher y Church (1970) concluyeron que el ganado es más sensible a los sabores amargos que a los salados, lo cual ayuda a explicar porque las sales de sulfato son rechazadas a menores concentraciones que las sales de cloruros (Digesti y Weeth, 1976). A su vez, los rumiantes tienen un apetito natural por el Na, principal catión del líquido extracelular y fuertemente relacionado a los mecanismos que controlan la sed (Fitzsimons, 1979). Grout y col. (2006) demostraron que el MgSO₄ y el Na₂SO₄ afectan en magnitudes disímiles el consumo de agua por el ganado vacuno. Los autores proponen que el apetito por el Na podría anular en parte la aversión a elevados niveles de sulfatos. Zimmerman (2003) no encontró diferencias significativas en el consumo de MgSO₄ y Na₂SO₄ para concentraciones de 1.500 mg/l y 3.000 mg/l. Sin embargo, cuando los valores se elevaron a 4.500 mg/l, el ganado consumió significativamente menores cantidades del agua que contenía MgSO₄. La Figura 4 reporta los patrones de consumo de aguas con diferentes concentraciones de SO₄²⁻ y NaCl en el agua de bebida.

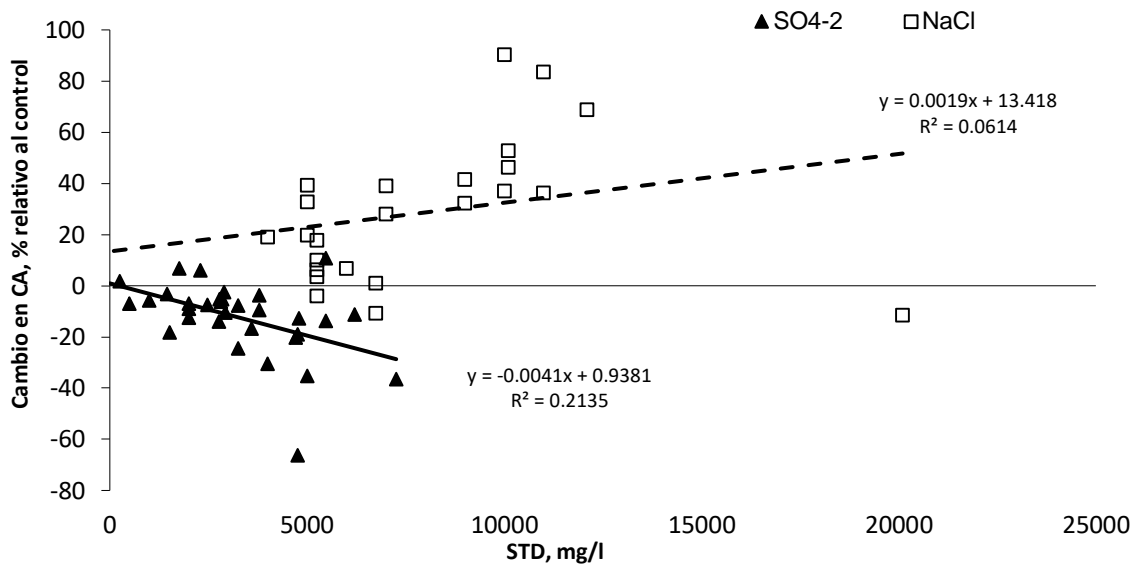


Figura 4. Efecto de aguas de bebida con predominancia de cloruro de sodio (NaCl) o sulfatos (SO₄²⁻) sobre el consumo de agua (CA) en bovinos. Las aguas con sulfatos fueron consideradas como aquellas en donde el ión SO₄²⁻ representó más del 40% de TSD. (Base de datos: Weeth y col., 1960; Weeth y Haverland, 1961; Weeth y col., 1968; Weeth y Capps, 1972; Digesti y Weeth, 1976; Dixon y Milligan, 1983; Saul y Flinn, 1985; Ray, 1989; Weeth y Hunter, 1971; Kattnig y col., 1992; Sager y Casagrande, 1998; Loneragan y col., 2001; Zimmerman, 2003; Patterson y col., 2002, 2003; Ward y Patterson, 2004; Grout y col., 2006; Cammack y col., 2010; Sexson y col., 2010; Visscher y col., 2013).

Si bien la fisiología renal es la que dicta en gran medida la tolerancia de una especie animal en particular al agua salada, la temperatura ambiente también puede modificar significativamente la tolerancia a aguas con concentraciones elevadas de sales a causa de que se modifican los requerimientos hídricos del animal. Novillos bebiendo aguas con concentraciones elevadas de sulfatos (hasta 2.300 mg/l) obtuvieron mejores ganancias de peso en los períodos del ensayo donde las temperaturas ambientales fueron más bajas (Loneragan y col., 2001). Según los autores, esto se debió en parte a una alteración de los requerimientos de agua en los animales ocasionando que el efecto de los sulfatos, como consecuencia de la reducción en el consumo de agua, fuese menor en los períodos con temperaturas bajas. La temperatura explicó un 25,7 % de la variación en el consumo de agua.

2.3. Metabolismo ruminal

Los rumiantes cubren la mayor parte de sus requerimientos energéticos a partir de la fermentación de los carbohidratos (ej. celulosa, hemicelulosa, almidón, azúcares), la cual es llevada a cabo por los microorganismos en el rumen. Los principales productos finales derivados de esta fermentación son los ácidos grasos volátiles (AGV), los cuales son absorbidos a través de la pared ruminal cubriendo gran parte de los requerimientos energéticos del animal (Sutton, 1979). La concentración ruminal y la proporción de los AGV depende fundamentalmente de la composición de la dieta, y de las características del ambiente ruminal (pH, tasa de pasaje, población microbiana, etc.).

La presencia de elevadas concentraciones de sales minerales en el rumen genera condiciones (osmolalidad, tasa de pasaje, cambios en los sitios de digestión, etc.) que pueden afectar la digestibilidad ruminal de alimentos. En este sentido, resultados obtenidos a partir de ensayos tanto *in vitro* como *in vivo* con infusiones ruminales de sales pueden contribuir a la comprensión de las modificaciones que ocurren en el tracto digestivo debidas al consumo de aguas con concentraciones elevadas de solutos. Conocer el efecto del agua salada sobre la digestibilidad y consumo permitirá predecir con mayor precisión el valor nutritivo y el potencial de producción de un determinado alimento en animales consumiendo aguas salobres.

2.3.1. Digestibilidad del alimento

* *In vitro*:

El efecto de excesos de sales sobre la digestibilidad *in vitro* ha sido determinado en forma directa en pocos trabajos (Cardon, 1953; Hubbert y col., 1958; Martinez y Church, 1970; Bergen, 1972; Harrison y col., 1992; Coria y col., 2007; Durmic y col., 2010, datos no publicados). Minerales suministrados en concentraciones adecuadas optimizan la actividad fermentativa de los microorganismos ruminales, ya sea por un aumento en la población de los mismos y/o su actividad

enzimática (Hubbert y col., 1958). Contrariamente, concentraciones de minerales en exceso deprimen la producción de gas y la digestión de sustratos *in vitro* (Fay y Ovejero, 1986; Coria y col., 2007; Durmic y col., 2010, datos no publicados). No obstante, el efecto varía con el tipo de microorganismo ruminal. Por ejemplo, concentraciones de azufre del orden de 1.000 mg/l afectaron negativamente la digestión *in vitro* de la celulosa, pero la del almidón no lo fue con concentraciones de hasta 11.000 mg/l, sugiriendo una mayor tolerancia de los microorganismos amilolíticos que los celulolíticos a la concentración ruminal de azufre (Hubbert y col., 1958; Kennedy y col., 1971; Harrison y col., 1992). Durmic y col. (2010, datos no publicados) en un estudio con dietas de alto contenido de sales (200 g NaCl/kgMS) observaron menor producción de gas o fermentabilidad *in vitro* que el control (15 g NaCl/kgMS).

Parte de los efectos de las sales sobre la fermentabilidad *in vitro* pueden ser atribuidos a un incremento en la osmolalidad. Bergen (1972) reportó que la digestión de la celulosa *in vitro* fue casi inhibida por completo cuando la osmolalidad se elevó por encima de 400 mOsm/kg como consecuencia del agregado de sales (NaCl y NaAc). Una observación interesante realizada por Coria y col. (2007) en un estudio de degradabilidad *in vitro* (sustrato, *Thinopyrum ponticum*) con concentraciones elevadas de sales totales y sulfatos, sugieren que la formación de grumos en los fermentadores en las concentraciones más elevadas (7.000 mg/l) podrían limitar el acceso al material a digerir. Los resultados discutidos indican que concentraciones elevadas de sales deprimen la degradabilidad de los sustratos.

* *In vivo*:

La Figura 5 resume los resultados de trabajos que muestran el impacto del NaCl dietario sobre la digestibilidad del alimento. El agregado de NaCl redujo la digestibilidad de la materia seca (DMS) en 28 de 33 comparaciones, promediando 4,4 puntos porcentuales de reducción respecto al tratamiento control con un consumo de 8 g NaCl/kgPV^{0,75}. Si bien existe

evidencia científica que la fermentación puede ser afectada por un incremento en la osmolalidad ruminal (Bergen, 1972; Rogers y col., 1979), el acceso *ad libitum* a aguas de calidad probablemente posibilitó a los animales de los trabajos analizados disminuir rápidamente la presión osmótica ruminal mediante el incremento del consumo de agua (Thomas y col., 2007). Difícilmente entonces la disminución en la DMS pueda ser atribuido a una elevación en la osmolalidad ruminal en estos casos. Por ejemplo, Croom y col. (1982) alimentando novillos con dietas con 7% de NaCl no registró cambios en la osmolalidad (273 vs. 277 mOsm/kg), pero los animales tratamiento consumieron un 140% más agua respecto a los animales control. No obstante, aumentos en el consumo de agua disminuyen la tasa de digestión de la fibra, debido posiblemente a una dilución de la población microbiana que dificulta el contacto sustrato-enzima y a una disminución en el tiempo de retención ruminal como consecuencia del incremento en la tasa de dilución (Baker y Harris, 1947; Berger y col., 1979; Berger y col., 1980).

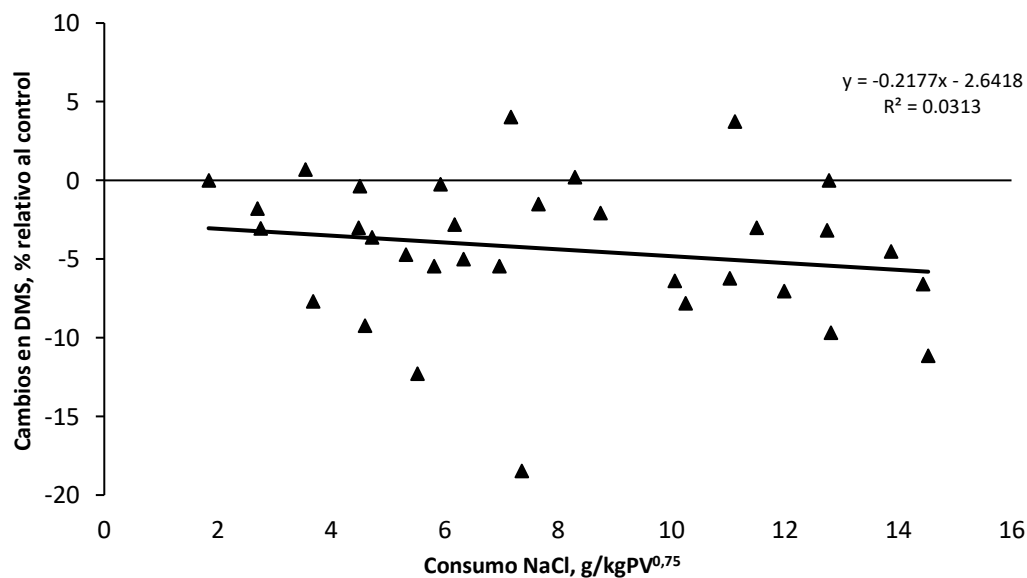


Figura 5. Respuesta en la digestibilidad de la materia seca (DMS) ante incrementos en el consumo de cloruro de sodio (NaCl). (Base de datos: Cardon, 1953; Wilson, 1966; Rogers y col., 1982; Reffett y Boling, 1985; Godwin y Williams, 1986; Masters y col., 2005; Thomas y col., 2007).

Concentraciones elevadas de sales (principalmente NaCl) en el rumen incrementan el consumo de agua disminuyendo el tiempo de residencia del alimento (Croom y col., 1982; Amaral y col. 1985; Rundgren y col., 1990). Hemsley y col. (1975) observaron que el tiempo de retención de Cr-EDTA disminuyó de 20 h a 12 h en ovejas al consumir alimentos con 11,75% NaCl y beber agua con 10.000 mg/l de NaCl. Contrariamente, 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 y col., 2001; Grout y col., 2006; Drewnoski y col., 2014). Sin embargo, los resultados de trabajos con aguas salobres *in vivo* son inconsistentes. Investigadores trabajando específicamente con aguas de bebida con elevados niveles de NaCl no observaron diferencias en DMS en dietas de calidad media a pesar de reportar incrementos en el consumo de agua mayores al 50% (Wilson, 1966; Tomas y col., 1973; Attia-Ismail y col., 2008). Por otro lado, Sager y Casagrande (1998) mostraron una mejoría de un 16% con respecto al control en la digestibilidad de pasto llorón (*Eragrostis curvula*, forraje de baja calidad) con bovinos bebiendo agua con 6.000 mg/l de STD, de los cuales 2.600 mg eran sulfatos, aunque no observaron diferencias cuando se les ofreció un forraje de alta digestibilidad (heno de alfalfa). En un trabajo reciente, Tsukahara y col. (2016) a pesar de no observar diferencias en el consumo de agua, reportaron disminuciones de hasta un 10% en la DMS en cabras bebiendo aguas con 6.900 mg/l de STD de los cuales 2.478 mg eran sulfatos.

2.3.2. Parámetros ruminales

* Ácidos grasos volátiles y tasa de dilución:

La Tabla 1 resume resultados de trabajos que evaluaron la influencia del agregado de sales sobre parámetros ruminales. Harrison y col. (1975), Thomson y col. (1978), Rogers y col.

(1979), Rogers y Davis (1982) y Godwin y Williams (1986) concuerdan que la infusión ruminal de sales modifica la salida de flujo líquido desde el rumen y la concentración y proporción de AGV, siendo los niveles de respuesta afectados por el tipo de dieta ofrecida al animal. Aumentos en la concentración de sodio (elemento osmóticamente activo) a nivel ruminal incrementa la presión osmótica (Carter y Grovum, 1990), estimulando el consumo de agua y el flujo de salida de la fase líquida desde el rumen (Rundgren y col., 1990). En este sentido, Church (1988) propone que la administración de sales altamente solubles (NaCl, NaHCO₃) incrementa el *turnover* líquido como consecuencia del aumento en el consumo voluntario de agua, modificando los productos finales de la fermentación de carbohidratos. Los componentes dietarios más solubles son arrastrados fuera del rumen cambiando el sitio de digestión al tracto digestivo inferior, alterando consecuentemente la producción y proporción molar de AGV (Figura 6). Incrementos en la tasa de dilución del licor ruminal han sido asociados con una mayor eficiencia en la síntesis de proteína microbiana y una menor producción de propionato en rumen (Harrison y col., 1975). En concordancia, Rogers y col. (1979) y Rogers y Davis (1982) observaron que la infusión de sales redujo la concentración molar de AGV ruminales. En ovejas, Godwin y Williams (1986) reportaron menores concentraciones de AGV con respecto al control a partir de infusiones de NaCl superiores a 43 g/d. Los autores sostuvieron que la reducción estuvo relacionada con la disminución en la digestibilidad de la materia orgánica como consecuencia del aumento en la tasa de pasaje a través del tracto digestivo.

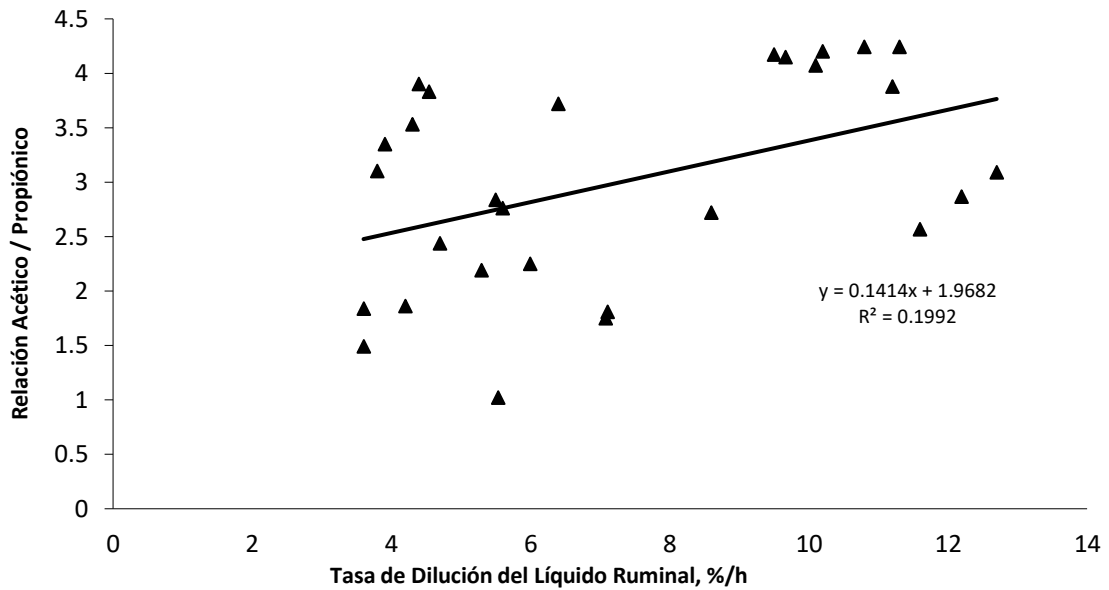


Figura 6. Efecto del aumento en el flujo del líquido ruminal como consecuencia del agregado de sales sobre la relación acético : propiónico. (Base de datos: Harrison y col., 1975; Thomson y col., 1978; Rogers y col., 1979; Rogers y Davis, 1982; Wiedmeier y col., 1987; Fraley y col., 2015).

Es importante aclarar que la modificación en los patrones fermentativos no solo depende de la naturaleza y cantidad de sal suministrada sino también de la dieta basal. Rogers y Davis (1982), trabajando con novillos fistulados y dos tipos de dieta (concentrada vs. fibrosa) e infusiones de NaHCO_3 o NaCl , observaron un incremento en la tasa de dilución y del flujo total de líquido ruminal y en la relación ácido acético : propiónico (A : P) en la ración concentrada. Sin embargo, en la dieta fibrosa no se observaron los mismos efectos a pesar de haberse aumentado también la salida total de fluido desde el rumen. Los autores atribuyeron la menor producción de propionato en la dieta concentrada, como consecuencia de la infusión de sales, al lavado de los materiales rápidamente fermentables. En coincidencia con estos resultados, Wiedmeier y col. (1987) observaron incrementos significativos en la salida del fluido total desde el rumen y en la relación A : P al agregar 2% de NaCl o NaHCO_3 a una dieta estándar para vacas lecheras. Por otro lado, Russell y Chow (1993) teorizaron que el agregado de bicarbonatos al rumen incrementaría

la tasa de dilución, aumentando el flujo de escape de almidón a la degradación ruminal, reduciendo la producción de ácido propiónico.

Cuando el consumo de la sal es mediante el agua de bebida, la información disponible es escasa y de resultados confusos. Valtorta y col. (2008), observaron que los parámetros ruminales no fueron afectados en animales consumiendo aguas con elevados niveles de sales (hasta 10.000 mg/l STD) cuando pastoreaban alfalfa fresca, atribuyendo los resultados obtenidos a la elevada capacidad buffer del rumen. A su vez, aguas de bebida con concentraciones de hasta 13.000 mg NaCl/l no produjeron cambios significativos en la salida de líquido desde el rumen en ovejas, a pesar que el consumo de agua se incrementó un 113% con respecto al control (Tomas y Potter, 1975). En concordancia con estos trabajos, Katting y col. (1992) tampoco observaron diferencias en la cinética del fluido ruminal en novillos bebiendo aguas con 2.300 mg/l STD. En contraste, el suministro de agua de bebida con 13.000 mg/l NaCl incrementó no solo el consumo de agua sino también el flujo de líquidos a través del rumen (Potter y col., 1972). Similarmente, Attia-Ismail y col. (2008) observaron que la tasa de *turnover* aumentó un 36% en ovejas como consecuencia de un incremento del 73% en el consumo de agua con 12.330 mg/l STD.

En líneas generales, estos resultados sugieren que el agregado de sales genera modificaciones en el metabolismo ruminal del animal, manifestándose a través de cambios en la producción total y proporción de AGV, tasa de *turnover* y flujo de la fase líquida ruminal. A pesar de esto, el impacto de las sales cuando son ingeridas a través del agua de bebida permanece aún poco desarrollado, requiriendo este tema mayor investigación.

* Población microbiana:

La mayoría de los trabajos publicados considerando el impacto de los minerales sobre los microorganismos ruminales se han centrado en definir los niveles a los cuales se maximiza el crecimiento y actividad microbiana (Harrison y col., 1992). Resultados obtenidos por

diversos investigadores indican que ante condiciones deficitarias el agregado de ciertos minerales incrementa el número y actividad de los microorganismos ruminales (Bray y Hemsley, 1969; Slyter y col., 1986; Wiedmeier y col., 1987; Promkot y col., 2007). Las bacterias encargadas de la digestión de la celulosa *in vitro* parecen ser más sensibles a los microminerales (Cu, Co, Zn, B) que a los macrominerales (S, Mg, Ca, Mn, Fe; Hubbert y col., 1958). A pesar de esto, existe poca información relacionada al impacto de elevadas concentraciones de sales sobre la población ruminal (Hubbert y col., 1958; Potter y col., 1972; Slyter y col., 1986; Alves de Olivera y col., 1996; Durmic y col., 2010, datos no publicados), y solo algunos trabajos se enfocaron sobre el efecto de aguas con altos tenores salino (Coria y col., 2007; Valtorta y col., 2008; Yousfi y col., 2016).

Coria y col. (2007) concluyeron que la actividad microbiana *in vitro* disminuyó ante concentraciones elevadas de sales (7.000 mg/l STD), mientras que Valtorta y col. (2008) trabajando con aguas de hasta 10.000 mg/l STD no observaron modificaciones *in vivo* ni en las bacterias ruminales ni en la población de protozoos de vacas Holando. La aparente contradicción entre ambos estudios puede ser atribuida a las condiciones más estables del ambiente durante los ensayos *in vitro*. Probablemente el aumento en la osmolalidad *in vivo* sería de menor magnitud, ya que otros factores afectarían las respuestas observadas. Extrapolar resultados *in vitro* a *in vivo* puede resultar desacertado en determinadas situaciones. Por otro lado, incrementos en la tasa de pasaje del alimento como consecuencia de consumos elevados de NaCl (150 g/d), redujeron las concentraciones de protozoos y *Selenomonas* en rumen (Hemsley y col., 1975). En un estudio reciente, Yousfi y col. (2016) reportaron una reducción sustancial en la concentración ruminal de protozoos en corderos bebiendo aguas enriquecidas con NaCl o Na₂SO₄.

2.4. Respuesta animal

El aumento medio diario de peso (AMD, kgPV/d) está positivamente relacionado con el consumo de alimento (NRC, 1996). En líneas generales, el AMD depende de la energía retenida

por sobre los requerimientos de mantenimiento del animal, denominada energía neta (EN; Di Marco, 2006) utilizada para la producción de carne, leche, lana, etc. Por lo tanto, un consumo elevado de alimento independientemente del tipo y tamaño animal se traduce en una mayor retención de energía destinada a ganancia de peso.

En base al perjuicio ocasionado fundamentalmente sobre el CMS como consecuencia de la ingesta de aguas extremadamente salinas, es lógico pensar en respuestas animales inferiores a las obtenidas bajo las mismas condiciones de producción, pero con menores contenidos de solutos en el agua de bebida. De acuerdo a los datos presentados en la Figura 7 se observa que la disminución en el AMD en bovinos está explicada en gran parte por la reducción en el CMS como consecuencia de la ingesta de elevadas cantidades de sal.

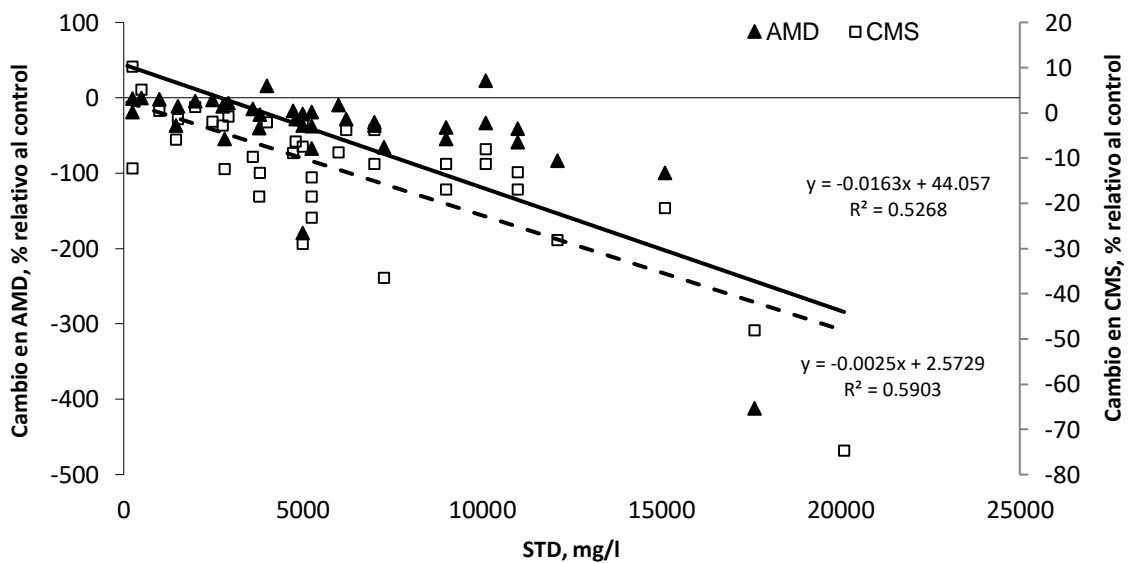


Figura 7. Efecto de la concentración de sólidos totales disueltos en el agua (STD) sobre el aumento medio diario (AMD) y su relación con el consumo de alimento (CMS) en bovinos. (Base de datos: Weeth y col., 1960; Weeth y Haverland, 1961; Weeth y col., 1968; Weeth y Hunter, 1971; Weeth y Capps, 1972; Digesti y Weeth, 1976; Saul y Flinn, 1985; Ray, 1989; Loneragan y col., 2001; Patterson y col., 2002, 2003; Ward y Patterson, 2004; Cammack y col., 2010; Sexson y col., 2010).

Sin embargo, la afectación en el AMD parece ser de una magnitud mayor a la reducción sobre el CMS indicando alguna alteración en la eficiencia con que el animal utiliza la

energía proveniente del alimento. Este aspecto es evidenciado en la Figura 8, en la cual se observa que la eficiencia de conversión alimenticia desmejora con incrementos en la concentración de sal en el agua de bebida. Existen indicios que documentan que el consumo elevado de sales en rumiantes ocasiona una pérdida de eficiencia energética (Moseley y Jones, 1974; Arieli y col., 1989) asociado a un incremento en la producción de calor (Rumpler y Johnson, 1987). Desbalances en los fluidos corporales extra e intracelulares de Na y K ocasionado por consumos elevados de NaCl incrementó los gastos energéticos de mantenimiento en capones reduciendo sus parámetros productivos (de Waal y col., 1989). El transporte de iones Na^+/K^+ a través de las membranas representa entre un 20 a 30% del gasto energético de mantenimiento en los animales (Baldwin y col., 1980) como consecuencia del ATP demandado por la bomba Na/K ATPasa para el mantenimiento del potencial de membrana (Di Marco, 2006). A su vez, niveles de azufre dietarios mayores a 0,20% MS puede tener efectos detrimentales sobre la eficiencia de partición de la energía, disminuyendo la EN dietaria y la conversión (Zinn y col., 1997). Estos y mayores niveles de azufre podrían ser consumidos por el ganado a través de aguas con elevados niveles de sulfatos que, sumado a los otros minerales disueltos en el agua de bebida, pueden elevar el costo energético de mantenimiento del animal con su consecuente detrimento en la producción. Por otro lado, altas concentraciones de sulfatos generan deficiencias secundarias de ciertos minerales (ej. cobre), llegando a ocasionar entre otros problemas menores tasas de crecimiento (McDowell y Arthington, 2005).

A pesar de esto, aguas con concentraciones de sales por debajo de 2.000 mg/l STD en principio no afectaría la eficiencia de conversión del animal. Incluso, con niveles medios (4.000 mg/l STD) pueden llegar a suplir las deficiencias minerales de forrajes de baja calidad, estimulando el consumo de alimento y producción de los animales (Sager y Casagrande, 1998). Por otro lado, el uso de sal (ej. NaCl) en cantidades moderadas podría ser útil por mejorar la eficiencia

alimenticia debido a un aumento en los nutrientes bypass en dietas concentradas energéticamente (Cheng y col., 1979; Croom y col., 1982).

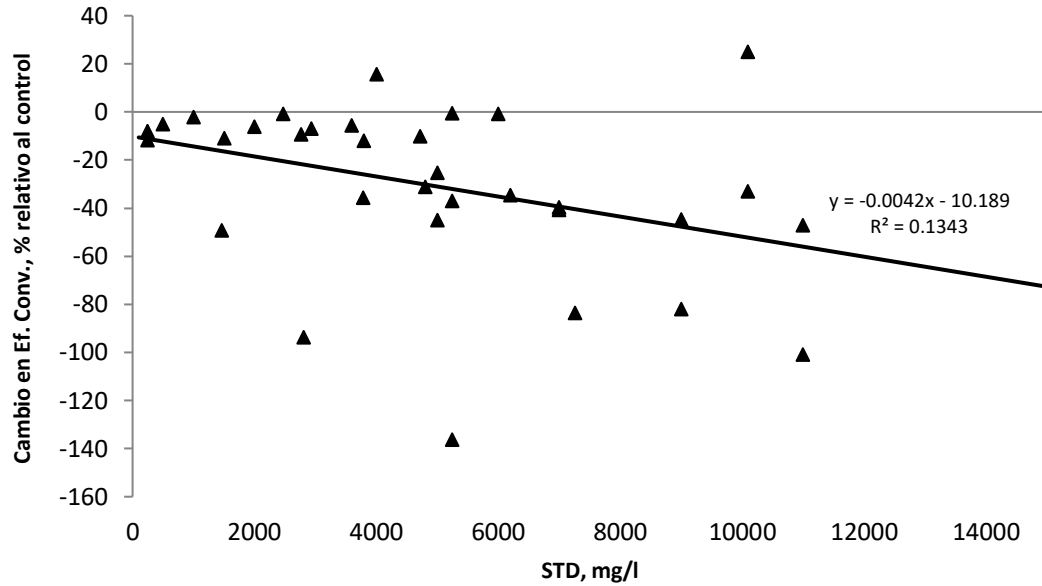


Figura 8. Efecto de la concentración de sólidos totales disueltos en el agua (STD) sobre la eficiencia de conversión alimenticia en bovinos – no se incluyeron las respuestas animales con AMD negativos –. (Base de datos: Weeth y col., 1960; Weeth y Haverland, 1961; Weeth y col., 1968; Weeth y Hunter, 1971; Weeth y Capps, 1972; Digesti y Weeth, 1976; Saul y Flinn, 1985; Ray, 1989; Loneragan y col., 2001; Patterson y col., 2002; Patterson y col., 2003; Ward y Patterson, 2004; Cammack y col., 2010; Sexson y col., 2010).

Tabla 1. Influencia de sales sobre la concentración de ácidos grasos volátiles ruminales (AGV) y tasa de dilución del líquido ruminal

Referencias	Animal	Dieta ¹		Tratamientos				AGV ²				Tasa de Dilución %/h	
		F	C	Medio	Sal	Unidad	Dosis	Total	ACE	PROP	BUT		ACE:PROP
		%						mM	mol/100mol				
Potter y col., 1972	Oveja	100		Agua	NaCl	mg/l	0	77,2					13,7
							13.000,0	78,1					18,3
							0	103,3					15,5
							13.000,0	75,1					21,1
Harrison y col., 1975	Oveja	90,7	9,3	Infusión	NaHCO ₃	g/d	0		62,7	27,8		2,2	6,0
							100,0		68,6	25,2		2,7	8,6
Thomson y col., 1978	Oveja	38	62	Dieta	Mezcla	g/d	0		52,0	35,0	12,0	1,5	3,6
							60,2		59,0	27,0	14,0	2,2	5,3
							127,8		67,0	18,0	15,0	3,7	6,4
							0		57,0	31,0	12,0	1,8	3,6
							45,7		65,0	21,0	14,0	3,1	3,8
Cheng y col., 1979	Vaca	100	100	Dieta	NaCl	%	0,5						4,3
							4,0						5,5
Rogers y col., 1979	Novillo	10	90	Infusión	Control	g/d	0	176,2	46,1	45,2	8,7	1,0	5,5
							500,0	126,8	57,3	32,7	10	1,7	7,1
							1.000,0	105,5	58,2	32,1	9,7	1,8	7,1
							0	121,8	72,7	17,5	9,8	4,1	9,7
							500,0	109,6	73,6	18,1	8,3	4,1	10,1
Croom y col., 1982	Novillo	20	80	Dieta	NaCl	g/d	49,0		53,2	29,8	11,4	1,8	
							278,0		57	28,4	9,9	2,01	
							499,0		58,9	23,7	12,3	2,5	

Tabla 1. Continúa

							611,0		61	23,9	10,5	2,5	
Rogers y Davis, 1982	Novillo	25	75	Infusión	Control	g/d	0	124,5	56,3	30,2	12,1	1,9	4,2
					NaHCO ₃		288,0	106,5	62,5	22,6	13,6	2,8	5,6
					NaCl		200,0	103,5	60,3	24,7	13,5	2,4	4,7
					NaCl		600,0	93,6	61,7	21,7	14,2	2,8	5,5
	Novillo	82	18	Infusión	Control	g/d	0	92,3	70,6	16,8	11,3	4,2	10,2
NaHCO ₃						288,0	91,6	70,5	16,9	11,3	4,2	9,5	
NaCl						200,0	88,9	70,8	16,7	11,5	4,2	10,8	
NaCl						600,0	84,9	71,2	16,8	10,8	4,2	11,3	
Rogers y col., 1982	Vaca lechera	25	75	Dieta	Control	%	0	123,8	49,3	38,9	9,9	1,3	10,3
					NaHCO ₃		2,0	119,3	58,3	25,2	15,2	2,3	12,4
					NaCl		2,0	112,6	54,6	32,0	11,9	1,8	12,2
Amaral y col., 1985	Vaca			Dieta	NaCl	g/d	163,2		56,5	22,0	14,5	2,7	
							816,0		60,7	19,6	13,6	3,1	
Godwin y Williams, 1986	Oveja	100		Infusión	NaCl	g/d	0	84,0					2,8
							29,2	88,0					3,0
							43,8	81,0					3,2
							58,4	80,0					3,8
							73,0	79,0					4,3
							87,6	76,0					5,4
							116,8	75,0					6,1
	Oveja	100		Infusión	NaCl	g/d	0	80,0					
116,8							71,0						
Harvey y col., 1986	Novillo	100		Dieta	NaCl	g/d	23,0	74,2	65,8	19,1		3,5	
							195,0	68,3	66,8	18,1		3,7	

Tabla 1. Continúa

							23,0	85,0	70,7	17,2		4,1	
							186,0	81,1	71,9	17,0		4,2	
							22,0	70,9	67,9	17,6		3,9	
							194,0	63,9	68,7	16,8		4,1	
							22,0	70,8	72,8	17,0		4,3	
							192,0	59,9	72,8	17,8		4,1	
Wiedmeier y col., 1987	Vaca lechera	50	50	Dieta	Control	%	0	108,7				3,3	3,9
					NaHCO ₃		2,0	96,7				3,8	4,5
					NaCl		2,0	112,0				3,9	4,4
West y col., 1987	Vaca lechera	40	60	Dieta	Control	g/d	0	123,4	53,7	29,4	12,1	1,9	14,6
					NaHCO ₃		334,5	119,9	53,7	27,4	14,2	2,1	13,5
					K ₂ CO ₃		268,7	108,6	52,9	27,8	14,1	2,0	14,7
					K ₂ CO ₃		407,0	114,9	57	22,5	15,5	2,6	13,9
Arieli y col., 1989	Cordero			Dieta	Control	g/d	0	36,6	64,3	25,2	10,5	2,5	
					NaCl		86,0	32,7	71,4	20,1	8,5	3,5	
de Waal y col., 1989	Cordero	100		Infusión	Mezcla	g/d	0		64,7	12,4	8,0	5,2	
							5,0		64,1	11,7	7,3	5,5	
							15,0		60,8	11,6	7,1	5,2	
Kattnig y col., 1992	Novillo	100		Agua	Mezcla	g/d	30,0		59,6	11,8	7,1	5,0	
							7,7						8,0
							53,6						7,8
Durmic y col., 2006	Novillo			Dieta	NaCl	%	1,5	51,9	67,0	22,0	10,0	3,0	
							20,0	37,6	76,0	18,0	7,0	4,2	
	Oveja			Dieta	NaCl	%	1,5	28,1	71,0	12,0	17,0	5,9	
							20,0	19,9	77,0	13,0	10,0	5,9	

Tabla 1. Continúa

Attia-Ismail y col., 2008	Oveja	65	35	Agua	NaCl	mg/l	420,0							3,9
							4.040,0							4,1
							8.150,0							4,2
							12.330,0							5,3
Valtorta y col., 2008.	Vaca lechera	62,4	37,6	Agua	Mezcla	mg/l	1.000,0	117,5	76,5	24,7	11,5	3,1		
							5.000,0	114,6	74,0	24,4	11,3	3,0		
							10.000,0	113,9	75,3	23,3	11,2	3,2		
Fraley y col., 2015	Vaca lechera	56	44	Dieta	K ₂ CO ₃	g/d	0	130,1	61,6	25	13,4	2,6	11,6	
							291,0	129,8	64,5	23,3	12,2	2,9	12,2	
							549,1	126,7	66,1	21,6	12,3	3,1	12,7	

¹ F = forraje; C = concentrado.

² ACE = acetato; PROP = propionato; BUT = butirato; ACE : PROP = relación acetato : propionato.

3. Alternativas para mejorar la utilización de aguas de bebida con elevados tenores salinos en rumiantes

3.1. Exposición Temprana

Si bien se considera que el comportamiento animal está fijado genéticamente, experiencias a edades tempranas a través de interacciones genoma - ambiente, influyen sobre la expresión de genes desencadenando cambios neurológicos, morfológicos y fisiológicos que pueden modificar subsecuentemente la respuesta de un individuo de manera permanente (Provenza y Balph, 1990; Provenza, 1995; Provenza y col., 1998). En los últimos años se ha generado un número considerable de estudios que evidencian la importancia del entorno durante períodos sensibles a lo largo de la gestación y en la vida postnatal temprana (Larson y col., 2009; Du y col., 2010; Wiedmeier y col., 2012; Miller-Cushon y col., 2013; Mecawi y col., 2015). En base a esto, experiencias con dietas y hábitats que varían en calidad pueden impactar significativamente en la productividad del animal durante su vida adulta. Por ejemplo, terneras que consumieron paja de trigo tratada con amoníaco al pie de la madre mostraron mejor desempeño como adultas (mejor condición corporal, mayor producción de leche y menor pérdida de peso) que terneras similares que consumieron paja de trigo sin amoníaco al pie de la madre (Wiedmeyer y col., 2002). En este aspecto, la adaptación a aguas con elevados tenores salinos también podría estar relacionado con experiencias tempranas, asociado a cambios fisiológicos en los animales (Wilson, 1978). Existen antecedentes que indican que los mecanismos relacionados al balance hidro-mineral son factibles de ser alterados bajo diferentes desafíos perinatales durante ciertos períodos críticos de la ontogenia en los animales (Arguelles y col., 2000; Mecawi y col., 2009, 2015). Kathleen y col. (2004) demostraron que la exposición a distintos niveles de cloruro de sodio durante la gestación y a edades tempranas generó cambios profundos y perdurables sobre el comportamiento y la fisiología de la regulación de los fluidos corporales en ratas.

Cuando los animales ingieren grandes cantidades de sal están obligados a excretar los excesos para poder mantener el balance de iones dentro de rangos fisiológicos normales. En este sentido, los riñones juegan un rol importante en la regulación del balance de agua y electrolítico del organismo (Hall, 2010). Por lo tanto, riñones con mayor capacidad para excretar más eficientemente el exceso de sal consumida sería una adaptación valiosa para animales que ingieren grandes volúmenes de sal, ya sea a través del alimento o del agua consumida. El balance de sal, incluyendo los procesos de reabsorción y excreción a nivel tubular, está regulado principalmente por factores humorales, donde el sistema renina-angiotensina (SRA) cumple una destacada función (Cunningham y Klein, 2009). El SRA colabora en la regulación a largo plazo de la presión sanguínea y el volumen extracelular corporal. La renina es una enzima secretada por las células yuxtglomerulares, en el túbulo contorneado distal de las nefronas (unidad funcional de los riñones). Esta enzima se secreta en respuesta a determinados estímulos como pueden ser una disminución de la presión de perfusión renal (debido generalmente a una hipotensión sistémica) o también como consecuencia de una hiponatremia (disminución del sodio en sangre). La liberación de renina conduce a normalizar la presión arterial y el volumen sanguíneo, a través del efecto de la angiotensina II (potente vasoconstrictor) sobre la hormona aldosterona que impulsa la reabsorción de sodio por el riñón (Figura 9). Por lo tanto, modificaciones en el funcionamiento del SRA podrían afectar la cantidad de sal que los animales pueden llegar a consumir, debido a que se altera su capacidad para excretar el exceso de sales. Se ha observado que consumos elevados de sal durante la preñez y el período postnatal temprano en ratas y ovejas pueden disminuir la actividad de la renina plasmática (ARP) en la descendencia, alterándose el consumo de agua, alimento y el balance de sal, incrementándose la tolerancia a consumos excesivos de sales (Alves da Silva y col., 2003; Chadwick y col., 2009; Digby y col., 2010).

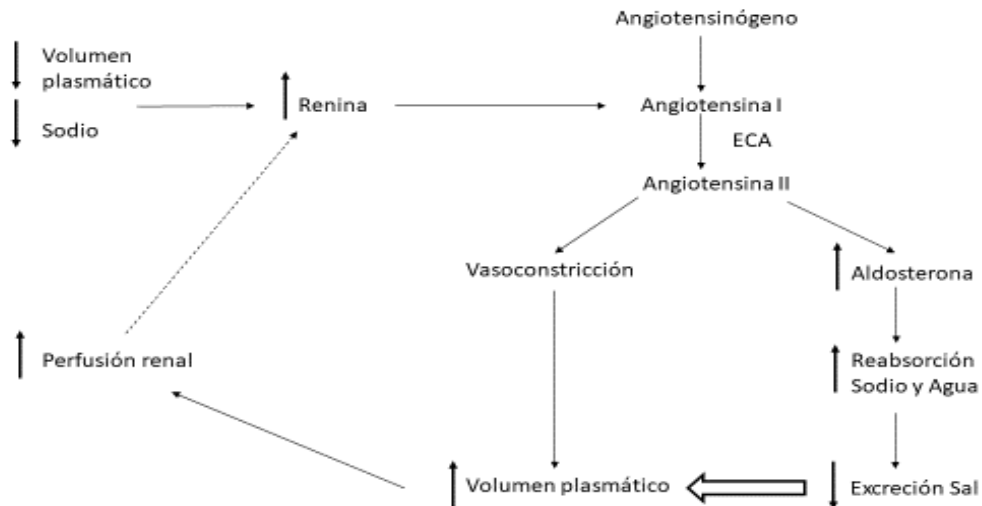


Figura 9. Esquema del sistema renina-angiotensina. Línea punteada indica inhibición. Enzima convertidora de angiotensina (ECA). Adaptado de Cunningham y Klein (2009).

Del marco teórico descrito puede deducirse que las experiencias tempranas del ganado puede ser una herramienta importante de manejo para lograr animales mejor adaptados a su ambiente, en este caso a una mayor tolerancia a aguas con elevados contenidos de sales. Así, los rumiantes expuestos a edades tempranas al consumo de aguas de bebida con elevados contenidos de sales (cloruros de sodio y sulfatos), con posterioridad tendrían una mayor capacidad para excretar los excesos de sales al beber la misma clase de agua al que fueron expuestos mejorando su desempeño productivo.

3.2. Suplementación Proteica

Los rumiantes alimentados con forrajes con escaso contenido proteico poseen mecanismos fisiológicos eficientes que les permite reducir las pérdidas de N endógeno y reciclarlo en forma de urea al rumen para mantener la síntesis de proteína microbiana (Wickersham y col., 2004; Starke y col., 2013). El reciclaje de N es un aspecto importante del metabolismo proteico, y se estima que entre el 10 al 50% de la urea sintetizada en el hígado retorna al rumen ya sea a partir de la transferencia directa desde la sangre a través del tejido epitelial o mediante la saliva (Lapierre y Lobley, 2001). Al respecto, el riñón desempeña una

importante función en los mecanismos fisiológicos de adaptación a dietas pobres en N (Tebot y col., 1998). En este sentido, se ha reportado que animales consumiendo dietas deficientes en proteína disminuyen la excreción de N urinario y urea-N (Silanikove, 1984; Marini y col., 2004). Desde hace algún tiempo se conoce que los túbulos renales están involucrados en el metabolismo del N, y que los animales incrementan la reabsorción de urea con dietas bajas en proteína (Schmidt-Nielsen y col., 1958). De esta forma, la urea reabsorbida a nivel renal, que puede retornar al rumen a través del torrente sanguíneo, cumple un importante rol en la economía del N (Starke y col., 2012). A su vez, se han informado cambios en el flujo de plasma renal y en la tasa de filtrado glomerular (TFG; indica el volumen de fluido filtrado por unidad de tiempo, y es utilizado como indicador de la función renal a nivel de glomérulo) en animales consumiendo dietas deficientes en N (Eriksson y Valtonen, 1982; Marini y Van Amburgh, 2003). Una reducción en TFG se ha señalado como el principal factor responsable de la retención de urea a nivel renal (Leng y col., 1985; Cirio y Boivin, 1990; Boldižárová y col., 1999). Debido a que la urea es filtrada libremente en los capilares glomerulares, la tasa de excreción teórica máxima para urea queda definida por el producto de TFG y la concentración de urea en plasma (NUP), considerando al flujo de orina estable (Hall, 2010). Así, una reducción en TFG acompañado por un incremento en la reabsorción urea parece ser la respuesta renal que contribuye a la economía del N de los animales alimentados con dietas con escaso contenido proteico (Ergene y Pickering, 1978).

En el contexto del presente trabajo de tesis resulta importante tener en cuenta que los mecanismos renales descritos pueden ser alterados por el consumo elevado de sales. Resultados de estudios previos sugieren que el consumo de sal puede ejercer una influencia post-glomerular sobre la reabsorción y excreción de urea (Potter, 1961; Schmidt-Nielsen y col., 1961). Por ejemplo, un aumento del 37% en la excreción de urea-N fue reportado en vaquillonas bebiendo agua con 1% NaCl con respecto al grupo control (Weeth y Lesperance, 1965). En ovejas, infusiones de NaCl y KCl incrementaron la excreción de N-urea en la orina, a la vez que

disminuyó NUP (Godwin y Williams, 1984). En un estudio más reciente, Meintjes y Engelbrecht (2004) observaron mayor excreción de urea a través de la orina como consecuencia de un aumento en TFG y en la excreción fraccional de urea en ovejas consumiendo niveles elevados de NaCl. De acuerdo a estos resultados, se puede pensar que rumiantes consumiendo agua con elevados contenidos de sales tendrían alterada su habilidad de ahorrar N afectando la capacidad para utilizar forrajes de baja calidad.

La suplementación proteica es una de las estrategias nutricionales más desarrolladas que ha demostrado frecuentemente mejorar la eficiencia de utilización de los forrajes deficientes en proteína y la retención de N por los rumiantes (Köster y col., 1996; Mathis y col., 2000; Wickersham y col., 2008). Además de esto, un aumento en el consumo de proteína puede modificar también la hemodinámica renal caracterizada por una respuesta de hiperfiltración, definido por un incremento en TFG y en el flujo sanguíneo renal (Cirillo y col., 2002). Debido a que la homeostasis de las sales es controlada entre otros factores por el funcionamiento renal (Hall, 2010), una hiperfiltración estaría contribuyendo en cierta manera a mejorar la capacidad para excretar las sales consumidas en exceso. En apoyo a esto, resultados previos muestran que esta respuesta renal estimula la natriuresis (excreción de Na en orina) a un nivel que puede afectar el balance de Na del organismo (Cirillo y col., 1998), siendo esta acción inducida por la ingestión de proteínas y no por carbohidratos o grasas (King y Levey, 1993).

Por otro lado, la necesidad de excretar el exceso de sales consumidas mientras que al mismo tiempo retener suficiente agua para prevenir deshidratación requiere de ciertos cambios en el funcionamiento renal (Meintjes y Engelbrecht, 2004). Esto determina que uno de los principales factores que define la concentración de sal que puede ser tolerada en el agua de bebida es la capacidad máxima que tienen los animales de concentrar la orina (Kay, 1997). La habilidad para producir orina concentrada o diluida permite a los individuos variar la excreción de agua para que coincida con el consumo de agua, manteniendo así una osmolalidad plasmática

sanguínea constante (Sands, 2007). Al respecto, está bien documentado que la urea en el riñón es esencial en los procesos de concentración de la orina (Marini y col., 2006), debido a que contribuye en gran medida a la generación de una medula renal hiperosmótica (Hall, 2010). Al ser la urea un producto del metabolismo proteico de los rumiantes, dietas altas en proteína incrementan la capacidad de concentrar la orina (Ergene y Pickering, 1978; Bankir y col., 1993). Rabinowitz y col. (1973) trabajando con ovejas observaron que la habilidad para concentrar la orina fue mayor en dietas con altos contenidos de proteína (14,0 vs. 4,9 %PB). Por el contrario, la reducción en el consumo de proteína ha sido reportado ser un factor que disminuye significativamente la habilidad para concentrar la orina en ovejas y también en otros rumiantes (Schmidt-Nielsen, 1979; Eriksson y Valtonen, 1982).

De acuerdo a lo comentado, se infiere que la suplementación proteica modificaría el funcionamiento renal, permitiendo mejorar la tolerancia a aguas con elevados tenores salinos en rumiantes consumiendo forrajes de baja calidad.

4. Bibliografía

- Alves de Oliveira, L., C. Jean-Blain, V. Dal Corso, V. Bénard, A. Durix, S. Komisarczuk-Bony. 1996. Effect of a high sulfur diet on rumen microbial activity and rumen thiamine status in sheep receiving a semi-synthetic, thiamine-free diet. *Reprod. Nutr. Dev.* 36:31-42.
- Alves da Silva, A., I. L. de Noronha, I. B. de Oliveira, D. M. C. Malheiros, J. C. Heimann. 2003. Renin-angiotensin system function and blood pressure in adult rats after perinatal salt overload. *Nutr. Metab. and Cardio. Diseases* 13:133-139.
- Amaral, D. M., W. J. Croom, A. H. Rakes, E. S. Leonard, A. C. Linnerud. 1985. Increased concentration of sodium chloride on milk production of cows fed low fiber diets. *J. Dairy Sci.* 68:2940-2947.
- Arguelles, J., J. I. Brime, P. Lopez-Sela, C. Perillan, M. Vijande. 2000. Adult offspring long-term effects of high salt and water intake during pregnancy. *Horm. Behav.* 37:156-162.
- Arias, R. A., y T. L. Mader. 2011. Environmental factors affecting daily water intake on cattle finished in feedlots. *J. Anim. Sci.* 89:245-251.

- Arieli, A., E. Naim, R. W. Benjamin, D. Pasternak. 1989. The effect of feeding saltbush and sodium chloride on energy metabolism in sheep. *Anim. Prod.* 49:451-457.
- Asplund, J. M., y W. H. Pfandes. 1972. Effects of water restriction on nutrient digestibility in sheep receiving fixed water: feed ratios. *J. Anim. Sci.* 35:1271-1274.
- Assad, F., T. L. M. Bayoumi, H. S. Khamis. 1997. Impact of long-term administration of saline water and protein shortage on the haemograms of camels and sheep. *J. Arid Env.* 37:71-81.
- Attia-Ismail, S. A., A. R. Abdo, A. R. T. Asker. 2008. Effect of salinity level in drinking water on feed intake, nutrient utilization, water intake and turnover and rumen function in sheep and goats. *Egyptian J. Sheep and Goat Sci.* 3:77-92.
- Baker, F., y S. T. Harris. 1947. Microbial digestion in the rumen and caecum with special reference to the decomposition of structural cellulose. *Nutr. Abstr. Rev.* 17:3.
- Baldwin, R. L., N. E. Smith, J. Taylor, M. Sharp. 1980. Manipulating metabolic parameters to improve growth rate and milk secretion. *J. Anim. Sci.* 51:1416-1428.
- Bankir, L., M. Ahloulay, N. Bouby, M. M. Trinh-Trang-Tan, F. Machet, B. Lacour, P. Jungers. 1993. Is the process of urinary urea concentration responsible for a high glomerular filtration rate?. *J. Am. Soc. Nephrol.* 4:1091-1103.
- Beede, D. K. 2012. What will our ruminants drink? *Anim. Frontiers* 2:36-43.
- Behnassi, M., S. A. Shahid, N. Mintz-Habib. 2014. Science, policy and politics of modern agricultural system: Global Context to Local Dynamics of Sustainable Agriculture. Springer Dordrecht. p. 223-237.
- Bergen, W. G. 1972. Rumen osmolality as a factor in feed intake control of sheep. *J. Anim. Sci.* 34:1054-1060.
- Berger, L. L., T. J. Klopfenstein, R. A. Britton. 1979. Effect of sodium hydroxide on efficiency of rumen digestion. *J. Anim. Sci.* 49:137.
- Berger, L. L., T. J. Klopfenstein, R. A. Britton. 1980. Effect of sodium hydroxide treatment on rate of passage and rate of ruminal fiber digestion. *J. Anim. Sci.* 50:745-749.
- Bird, P. R. 1972. Sulphur metabolism and excretion studies in ruminants: X. Sulphide toxicity in sheep. *Aust. J. Biol. Sci.* 25:1087-1098.
- Boldižárová, K., Š Faix, L. Leng. 1999. The kidney function in urea-loaded sheep fed a high protein diet. *Acta Vet. Brno* 68:185-190.
- Bond, J., T. S. Rumsey, B. T. Weinland. 1975. Effect of deprivation and reintroduction of feed and water on the feed and water intake behavior of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 43:873-878.

- Bray, A. C., y J. A. Hemsley. 1969. Sulphur metabolism in sheep. IV. The effect of a varied dietary sulphur content on some body fluid sulphate levels and on the utilization of urea-supplemented roughage by sheep. *Austr. J. Agr. Res.* 20:759-773.
- Brew, M. N., R. O. Myer, M. J. Hersom, J. N. Carter, M. A. Elzo, G. R. Hansen, D. G. Riley. 2011. Water intake and factors affecting water intake of growing beef cattle. *Livest. Sci.* 140:297-300.
- Burgos, M. S., W. Langhans, M. Senn. 2000. Role of rumen fluid hypertonicity in the dehydration-induced hypophagia of cows. *Physiol. Behav.* 71:423-430.
- Cammack, K. M., C. L. Wright, K. J. Austin, P. S. Johnson, R. R. Cockrum, K. L. Kessler, K. C. Olson. 2010. Effects of high-sulfur water and clinoptilolite on health and growth performance of steers fed forage-based diets. *J. Anim. Sci.* 88:1777-1785.
- Cardon, B. P. 1953. Influence of a high salt intake on cellulose digestion. *J. Anim. Sci.* 12:536-540.
- Carter, R. R., y W. L. Grovum. 1990. A review of the physiological significance of hypertonic body fluids on feed intake and ruminal function: salivation, motility and microbes. *J. Anim. Sci.* 68:2811-2832.
- Chadwick, M. A., P. E. Vercoe, I. H. Williams, D. K. Revell. 2009. Dietary exposure of pregnant ewes to salt dictates how their offspring respond to salt. *Physiol. Behav.* 97:437-445.
- Cheng, K. J., C. B. Bailey, R. Hironaka, J. W. Costerton. 1979. Bloat in feedlot cattle: Effects on rumen function of adding 4% sodium chloride to a concentrate diet. *Can. J. Anim. Sci.* 59:737-747.
- Church, D. C. 1988. *The ruminant animal: digestive physiology and nutrition*. Prospect Heights, IL., Waveland Press, Inc. 564 p.
- Cirillo, M., C. Lombardi, M. Laurenzi, N. G. De Santo. 2002. Relation of urinary urea to blood pressure: interaction with urinary sodium. *J. Human Hypert.* 16:205-212.
- Cirillo, M., P. Anastasio, L. Spitali, D. Santoro, N. G. De Santo. 1998. Effects of meat meal on renal sodium handling and sodium balance. *Miner. Electro. Metab.* 24:279-284.
- Cirio, A. y R. Boivin. 1990. Extraction renale du para-aminohippurate et de l'inuline chez le mouton carence en proteines. *Ann. Rech. Vet.* 21:167-170.
- Coria, M. L., J. P. Fay, S. B. Cseh, M. A. Brizuela. 2007. Efecto de concentraciones elevadas de sales totales y sulfatos en agua de bebida sobre la degradabilidad ruminal in vitro de *Thinopyrum ponticum*. *Arch. Med. Vet.* 39:261-267.
- Croom, W. J., R. W. Harvey, A. C. Linnerud, M. Froetschel. 1982. High levels of sodium chloride in beef cattle diets. *Can. J. Anim. Sci.* 62:217-227.

- Cunningham, J. G., y B. G. Klein. 2009. Fisiología veterinaria 4° ed. Elsevier, Barcelona, España.
- de Waal, H. O., M. A. Baard, E. A. N. Engels. 1989. Effects of sodium chloride on sheep. 2. Voluntary feed intake and changes in certain rumen parameters of young Merino wethers grazing native pasture. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 19:34-42.
- Descheemaeker, K., T. Amede, A. Haileslassie. 2010. Improving water productivity in mixed crop-livestock farming system of sub-Saharan Africa. *Agr. Water Manag.* 97:579-586.
- Di Marco, O. N. 2006. Crecimiento de vacunos para carne. Ed. INTA, Argentina. 204 p
- Digby, S. N., D. Blache, D. G. Masters, D. K. Revell. 2010. Responses to saline drinking water in offspring born to ewes fed high salt during pregnancy. *Small Ruminant Res.* 91:87-92.
- Digesti, R. D., y H. J. Weeth. 1976. A defensible maximum for inorganic sulfate in drinking water of cattle. *J. Anim. Sci.* 42:1498-1502.
- Dixon, R. M., y L. P. Milligan. 1983. Urea metabolism in steers fed mature grass hay and given fresh or salt water. *Can. J. Anim. Sci.* 63:149-154.
- Drewnoski, M. E., y S. L. Hansen. 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.
- Drewnoski, M. E., D. J. Pogge, S. L. Hansen. 2014. High-sulfur in beef cattle diets: A review. 92:3763-3780.
- Du, M., J. Tong, J. Zhao, K. R. Underwood, M. Zhu, S. P. Ford, P. W. Nathanielsz. 2010. Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals. *J. Anim. Sci.* 88:E51-E60.
- Durmic, Z., M. N. Silence, K. J. Munn, G. Gapper, P. E. Vercoe. 2006. Some rumen parameters in animals fed high salt diets. *Aust. Soc. Anim. Prod.* 26th Biennial Conference, Perth, Australia.
- Ergene, N., y E. C. Pickering. 1978. The effects of reducing dietary nitrogen and of increasing sodium chloride intake on urea excretion and reabsorption and on urine osmolality in sheep. *Q. J. Exp. Physiol.* 63:67-76.
- Eriksson, L., y M. Valtonen. 1982. Renal urea handling in goats fed high and low protein diets. *J. Dairy Sci.* 65:385-389.
- Fay, J. P., y F. M. A. Ovejero. 1986. Effect of lactate on the in vitro digestion of *Agropyron elongatum* by rumen microorganisms. *Anim. Feed Sci. Technol.* 16:161-167.
- Fitzsimons, J. T. 1979. The physiology of thirst and sodium appetite. Cambridge, UK: Cambridge Univ. Press.
- Fitzsimons, J. T. 1998. Angiotensin, thirst and sodium appetite. *Physiol. Rev.* 78:583-686.

- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2011a. World livestock 2011 - Livestock in food security. FAO, Rome, Italy.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2011b. El estado de los recursos de tierras y aguas del mundo para la alimentación y la agricultura. La gestión de los sistemas en situación de riesgo. FAO, Roma Italia y Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Forbes, J. M., y J. P. Barrio. 1992. Abdominal chemo- and mechanosensitivity in ruminants and its role in the control of food intake. *Exp. Phy.* 77:27-50.
- Fraley, S. E., M. B. Hall, T. D. Nennich. 2015. Effect of variable water intake as mediated by dietary potassium carbonate supplementation on rumen dynamics in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:3247-3256.
- Goatcher, W. D., y D. C. Church. 1970. Taste responses in ruminants. IV. Reactions of pygmy goats, normal goats, sheep and cattle to acetic acid and quinine hydrochloride. *J. Anim. Sci.* 31:373-382.
- Godwin, I. R., y V. J. Williams. 1984. Renal control of plasma urea level in sheep: The diuretic effect of urea, potassium and sodium chloride. *Exp. Physiol.* 69:49-59.
- Godwin, I. R., y V. J. Williams. 1986. Effects of intraruminal sodium chloride infusion on rumen and renal nitrogen and electrolyte dynamics in sheep. *British J. Nutr.* 56:379-394.
- Grout, A. S., D. M. Veira, D. M. Weary, M. A. G. von Keyserlingk, D. Fraser. 2006. Differential effects of sodium and magnesium sulfate on water consumption by beef cattle. *J. Anim. Sci.* 84:1252-1258.
- Hall, J. E. 2010. Guyton and Hall textbook of medical physiology. 12th ed. Elsevier, Philadelphia.
- Harrison, D. G., D. E. Beever, D. J. Thomson, D. F. Osbourn. 1975. Manipulation of rumen fermentation in sheep by increasing the rate of flow of water from the rumen. *J. Agri. Sci.* 85:93-101.
- Harrison, G. A., K. A. Dawson, R. W. Hemken. 1992. Effects of high iron and sulfate ion concentrations on dry matter digestion and volatile fatty acid production by ruminal microorganisms. *J. Anim. Sci.* 70:1188-1194.
- Harvey, R. W., W. J. Croom, K. R. Pond, B. W. Hogarth, E. S. Leonard. 1986. High levels of sodium chloride in supplements for growing cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 66:423-429.
- Hemsley, J. A., J. P. Hogan, R. H. Weston. 1975. Effect of high intake of sodium chloride on the utilization of a protein concentrate by sheep. II. Digestion and absorption of organic matter and electrolytes. *Aust. J. Agr. Res.* 26:715-727.

- Herrero, M., P. K. Thornton, P. Gerber, R. S. Reid. 2009. Livestock, livelihoods and the environment: understanding the trade-offs. *Current Opinion in Environ. Sust.* 1:111-120.
- Hubbert, F., E. Cheng, W. Burroughs. 1958. Mineral requirement of rumen microorganisms for cellulose digestion in vitro. *J. Anim. Sci.* 17:559-568.
- Jiménez Cisneros, B. E., T. Oki, N. W. Arnell, G. Benito, J. G. Cogley, P. Döll, T. Jiang, S. S. Mwakalila. 2014. Freshwater resources. In: C. B. Field, V. R. Barros, D. J. Dokken, K. J. Mach, M. D. Mastrandrea, T. E. Bilir, M. Chatterjee, K. L. Ebi, Y. O. Estrada, R. C. Genova, B. Girma, E. S. Kissel, A. N. Levy, S. MacCracken, P. R. Mastrandrea, L. L. White, editors. *Climate change 2014: Impacts, adaptation, and vulnerability. Part A: Global and sectoral aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.* Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK, and New York, NY. p. 229-269.
- Johnson, P. S., H. H. Patterson, R. Haigh. 2004. Effects of sulfates in water on performance of steers grazing rangeland. *South Dakota Ag. Exp. Station Beef* 2004-08.
- Kandyliis, K. 1984. Toxicology of sulfur in ruminants: Review. *J. Dairy Sci.* 67:2179-2187.
- Kathleen, S. C., E. G. Krause, D. L. Wong, R. J. Contreras. 2004. Gestational and early postnatal dietary NaCl levels affect NaCl intake, but not stimulated water intake by adult rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 286:1013-1050.
- Katting, R. M., A. J. Pordomingo, A. G. Schneberger, G. C. Duff, J. D. Wallace. 1992. Influence of saline water on intake, digesta kinetics, and serum profiles of steers. *J. Range Manage.* 45:514-518.
- Kay, R. N. B. 1997. Responses of African livestock and wild herbivores to drought. *J. Arid Env.* 37:683-694.
- Kennedy, L. G., G. E. Mitchell, C. O. Little. 1971. Influence of sulfur on in vitro starch digestion by rumen microorganisms. *J. Anim. Sci.* 32:359-363.
- Kessler, K. L., K. C. Olson, C. L. Wright, K. J. Austin, K. McInerney, P. S. Johnson, R. R. Cockrum, A. M. Jons, K. M. Cammack. 2013. Effects of high-sulphur water on hepatic gene expression of steers fed fibre-based diets. *J. Anim. Physiol. and Anim. Nutr.* 97:838-845.
- King, A. J., y A. S. Levey. 1993. Dietary protein and renal function. *J. Am. Soc. Nephrol.* 3:1723-1737.

- Köster, H. H., R. C. Cochran, E. C. Titgemeyer, E. S. Vanzant, I. Abdelgadir, G. St-Jean. 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.
- Kume, S., K. Nonaka, T. Oshita, T. Kozakai. 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., y G. E. Lobley. 2001. Nitrogen recycling in the ruminant: a review. *J. Dairy Sci.* 84:E223-E236.
- Larson, D. M., J. L. Martin, D. C. Adams, R. N. Funston. 2009. Winter grazing system and supplementation during late gestation influence performance of beef cows and steers progeny. *J. Anim. Sci.* 87:1147-1155.
- Legesse, G., K. H. Ominski, K. A. Beauchemin, S. Pfister, M. Martel, E. J. McGeough, A. Y. Hoekstra, R. Kroebel, M. R. C. Cordeiro, T. A. McAllister. 2017. Board-invited review: Quantifying water use in ruminant production. *J. Anim. Sci.* 95:2001-2018.
- Leng, L., M. Szanyiova, K. Boda. 1985. The renal response of sheep to a low dietary nitrogen intake. *Physiol. Bohemoslov.* 34:147-154.
- Loneragan, G. H., J. J. Wagner, D. H. Gould, F. B. Garry, M. A. Thoren. 2001. Effects of water sulfate concentration on performance, water intake, and carcass characteristics of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 79:2941-2948.
- Macfarlane, W. V., y B. Howard. 1972. Comparative water and energy economy of wild and domestic animals. *Symposia of the Zoological Society of London* 31:261-296.
- Marini, J. C., y M. E. Van Amburgh. 2003. Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers. *J. Anim. Sci.* 81:545-552.
- Marini, J. C., J. D. Klein, J. M. Sands, M. E. Van Amburgh. 2004. Effect of nitrogen intake on nitrogen recycling and urea transporter abundance in lambs. *J. Anim. Sci.* 82:1157-1164.
- Marini, J. C., J. M. Sands, M. E. Van Amburgh. 2006. Urea transporters and urea recycling in ruminants. In: *Ruminant Physiology*. The Netherlands, Wageningen Academic Pub., p. 155-171.
- Martinez, A., y D. C. Church. 1970. Effect of various mineral elements on In Vitro Rumen cellulose digestion. *J. Anim. Sci.* 31:982-990.
- Master, D. G., A. J. Rintoul, R. A. Dynes, K. L. Pearce, H. C. Norman. 2005. Feed intake and production in sheep fed diets high in sodium and potassium. *Aust. J. Agri. Res.* 56:427-434.

- Master, D. G., S. E. Benes, H. C. Norman. 2007. Biosaline agriculture for forage and livestock production. *Agric. Ecosyst. Environ.* 119:234-248.
- Mathis, C. P., R. C. Cochran, J. S. Heldt, B. C. Woods, I. E. Abdelgadir, K. C. Olson, E. C. Titgemeyer, E. S. Vanzant. 2000. Effects of supplemental degradable intake protein on utilization of medium to low-quality forages. *J. Anim. Sci.* 78:224-232.
- McDowell, L. R., y J. Arthington. 2005. Minerals for grazing ruminants in tropical regions. 4th ed., Univ. Fl. Gainesville, FL.
- Mckinley, M. J., y A. K. Johnson. 2004. The physiological regulation of thirst and fluid intake. *Phy.* 19:1-6.
- Mecawi, A. S., A. F. Macchione, P. Nuñez, C. Perillan, L. C. Reis, L. Vivas, J. Arguelles. 2015. Developmental programming of thirst and sodium appetite. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 51:1-14.
- Mecawi, A. S., I. G. Araujo, F. V. Fonseca, G. Almeida-Pereira, W. S. Côrtes, F. F. Rocha, L. C. Reis. 2009. Behavioural changes induced by angiotensin-converting enzyme inhibition during pregnancy and lactation in adult offspring rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 36:495-500.
- Meintjes, R. A., y H. Engelbrecht. 2004. Changes in the renal handling of urea in sheep on a low protein diet exposed to saline drinking water. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 71:165-170.
- Meyer, U., M. Everinghoff, D. Gädeken, G. Flachowsky. 2004. Investigation on the water intake of lactating dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 90:117-121.
- Miller-Cushon, E. K., C. Montoro, A. Bach, T. J. DeVries. 2013. Effect of early exposure to mixed rations differing in forage particle size on feed sorting of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 96:3257-3264.
- Molden, D., K. Frenken, R. Barker, C. de Fraiture, B. Mati, M. Svendsen, C. Sadoff, C. M. Finlayson. 2007. Trends in water and agricultural development. In: *Water for Food, Water for Life: A Comprehensive Assessment of Water Management in Agriculture*. London, UK: Earthscan, and Colombo, Sri Lanka: International Water Management Institute. pp 57-89
- Moseley, G., y D. I. H. Jones. 1974. The effect of sodium chloride supplementation of sodium adequate hay on digestion, production and mineral nutrition in sheep. *J. Agr. Sci.* 83:37-42.
- Murphy, M. R., C. L. Davis, G. C. McCoy. 1983. Factors affecting water consumption by Holstein cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 66:35-38.

- NRC. 2016. Nutrient requirements of beef cattle. 8th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Patterson, H. H., P. S. Johnson, T. R. Patterson, D. B. Young, R. Haigh. 2002. Effects of water quality on animal health and performance. *Proc. West. Sec. Am. Soc. Anim. Sci.* 53:217-220.
- Patterson, H. H., P. S. Johnson, W. B. Epperson, R Haigh. 2003. Effect of total dissolved solids and sulfates in drinking water for growing steers. *Proc. West. Sec. Am. Soc. Anim. Sci.* 54:378-380.
- 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.
- Peirce, A. W. 1959. Studies on salt tolerance of sheep. II. The tolerance of sheep for mixtures of sodium chloride and magnesium chloride in the drinking water. *Crop and Pasture Sci.* 10:725-735.
- Peirce, A. W. 1960. Studies on salt tolerance of sheep. *Crop and Pasture Sci.* 11:548-569.
- Peirce, A. W. 1962. Studies on salt tolerance of sheep. IV. The tolerance of sheep for mixtures of sodium chloride and calcium chloride in the drinking water. *Crop and Pasture Sci.* 13:479-486.
- Peirce, A. W. 1963. Studies on salt tolerance of sheep. V. The tolerance of sheep for mixtures of sodium chloride, sodium carbonate, and sodium bicarbonate in the drinking water. *Crop and Pasture Sci.* 14:815-823.
- Potter, B. J. 1961. The renal response of sheep to prolonged ingestion of sodium chloride. *Aust. J. Agric. Res.* 12:440-445.
- Potter, B. J., D. J. Walker, W. W. Forrest. 1972. Changes in intraruminal function of sheep when drinking saline water. *Br. J. Nutr.* 27:75-83.
- Prasetyono, B. W. H. E., K. Sunagawa, A. Shinjo, S. Shiroma. 2000. Physiological relationship between thirst level and feed intake in goats fed on alfalfa hay cubes. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 13:1536-1541.
- Promkot, C., M. Wanapat, C. Wachirapakorn, C. Navanukraw. 2007. Influence of sulfur on fresh cassava foliage and cassava hay incubated in rumen fluid of beef cattle. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 20:1424-1432.
- Provenza, F. D. 1995. Postingestive feedback as an elementary determinant of food preference and intake in ruminants. *J. Range Manage.* 48:2-17.
- Provenza, F. D., J. J. Villalba, C. D. Cheney, S. J. Werner. 1998. Self-organization of foraging behavior: From simplicity to complexity without goals. *Nutr. Res. Rev.* 11:199-222.

- Provenza, F. D., y D. F. Balph. 1990. Applicability of five diet-selection models to various foraging challenges ruminants encounters. En: R. N. Hughes (Editor), Behavioural Mechanisms of Food Selection. NATO ASI Series G: Eco. Sci., Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg, Germany. 20:423-459.
- Rabinowitz, L., R. A. Gunther, E. S. Shoji, R. A. Freedland, E. H. Avery. 1973. Effects of high and low protein diets on sheep renal function and metabolism. *Kidney Intern.* 4:188-207.
- Ray, D. E. 1989. Interrelationships among water quality, climate and diet on feedlot performance of steer calves. *J. Anim. Sci.* 67:357-363.
- Reffett, J. K., y J. A. Boling. 1985. Nutrient utilization in lambs fed diets high in sodium or potassium. *J. Anim. Sci.* 61:1004-1009.
- Rogers, J. A., B. C. Marks, C. L. Davis, J. H. Clark. 1979. Alteration of rumen fermentation in steers by increasing rumen fluid dilution rate with mineral salts. *J. Dairy Sci.* 62:1599-1605.
- Rogers, J. A., C. L. Davis, J. H. Clark. 1982. Alteration of rumen fermentation, milk fat synthesis, and nutrient utilization with mineral salts in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 65:577-586.
- Rogers, J. A., y C. L. Davis. 1982. Effects of intraruminal infusions of mineral salts on volatile fatty acid production in steers fed high-grain and high-roughage diets. *J. Dairy Sci.* 65:953-962.
- Rumpler, W. V., y D. E. Johnson. 1987. The effect of high cation levels in diet with and without ionophores on in vivo methanogenesis in steers. In *Energy Metabolism in Farm Animals*. Ed. P. W. Moe, H. F. Tyrrell and P. J. Reynolds.
- Rundgren, M., H. Jonasson, H. Hjelmqvist. 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.
- Russell, J. B., y J. M. Chow. 1993. Another theory for the action of ruminal buffer salts: decreased starch fermentation and propionate production. *J. Dairy Sci.* 76:826-830.
- Sager, R. L., y H. Casagrande. 1998. Efecto de la salinidad del agua de bebida sobre el consumo y digestibilidad de pasto lloron (*Eragrostis curvula*) y alfalfa (*Medicago sativa*). *Invest. Agr. Prod. Sanid. Anim.* 13:70-75.
- Sands, J. M. 2007. Critical role of urea in the urine-concentrating mechanism. *J. Am. Soc. Nephrol.* 18:670-671.
- Saul, G. R., y P. C. Flinn. 1985. Effects of saline drinking water on growth and water and feed intakes of weaner heifer. *Aust. J. Exp. Agric.* 25:734-738.

- Schmidt-Nielsen, B. 1979. Urinary concentrating processes in vertebrates. *Yale J. Bio. Med.* 52:545-561.
- Schmidt-Nielsen, B., H. Osaki, H. V. Murdaugh, R. O'Dell. 1958. Renal regulation of urea excretion in sheep. *Am. J. Physiol.* 194:221-228.
- Schmidt-Nielsen, B., R. D. O'Dell, H. Osaki. 1961. Interdependence of urea and electrolytes in production of a concentrated urine. *Am. J. Physiol.* 200:1125-1132.
- Sexson, J. L., J. J. Wagner, T. E. Engle, J. W. Spears. 2010. Effects of water quality and dietary potassium on performance and carcass characteristics of yearling steers. *J. Anim. Sci.* 88:296-305.
- Silanikove, N. 1984. Renal excretion of urea in response to changes in nitrogen intake in desert (black Bedouin) and non-desert (Swiss Saanen) goats. *Comp. Biochem. Physiol.* 79:651-654.
- Silanikove, N. 1992. Effects of water scarcity and hot environment on appetite and digestion in ruminants: A review. *Livest. Prod. Sci.* 30:175-194.
- Slyter, L. L., W. Chalupa, R. R. Oltjen, J. M. Weaver. 1986. Sulfur influences on rumen microorganisms in vitro and in sheep and calves. *J. Anim. Sci.* 63:1949-1959.
- Starke, S., A. S. Muscher, N. Hirschhausen, E. Pfeffer, G. Breves, K. Huber. 2012. Expression of urea transporters is affected by dietary nitrogen restriction in goat kidney. *J. Anim. Sci.* 90:3889-3897.
- Starke, S., C. Cox, K. H. Südekum, K. Huber. 2013. Adaptation of electrolyte handling to low crude protein intake in growing goats and consequences for in vivo electrolyte excretion. *Small Rumin. Res.* 114:90-96.
- Sutton, J. D. 1979. Carbohydrate fermentation in the rumen - variations on theme. *Proc. Nutri. Soc.* 38:275-281.
- Tebot, I., S. Faix, M. Szanyiova, A. Cirio, L. Leng. 1998. Micropuncture study on urea movements in the kidney cortical tubules of low protein fed sheep. *Vet. Res.* 29:99-105.
- Thomas, D. T., A. J. Rintoul, D. G. Masters. 2007. Increasing dietary sodium chloride increases wool growth but decreases in vivo organic matter digestibility in sheep across a range of diets. *Austr. J. Agri. Res.* 58:1023-1030.
- Thomson, D. J., D. E. Beever, M. J. Latham, M. E. Sharpe, R. A. Terry. 1978. The effect of inclusion of mineral salts in the diet on dilution rate, the pattern of rumen fermentation and the composition of the rumen microflora. *J. Agri. Sci.* 91:1-7.
- Tomas, F. M., G. B. Jones, B. J. Potter, G. L. Langsford. 1973. Influence of saline drinking water on mineral balances in sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 24:377-386.

- Tomas, F. M., y B. J. Potter. 1975. Influence of saline drinking water on the flow and mineral composition of saliva and rumen fluid of sheep. *Aust. J. Agr. Res.* 26:585-598.
- Tsukahara, Y., R. Puchala, T. Sahlu, A. L. Goetsch. 2016. Effects of level of brackish water on feed intake, digestion, heat energy, and blood constituents of growing Boer and Spanish goat wethers. *J. Anim. Sci.* 94:3864-3874.
- Utley, P. R., N. W. Bradley, J. A. Boling. 1970. Effect of restricted water intake on feed intake, nutrient digestibility and nitrogen metabolism in steers. *J. Anim. Sci.* 31:130-135.
- Uwituze, S., G. L. Parsons, K. K. Karges, M. L. Gibson, L. C. Hollis, J. J. Higgins, J. S. Drouillard. 2011. Effects of distillers grains with high sulfur concentration on ruminal fermentation and digestibility of finishing diets. *J. Anim. Sci.* 89:2817-2828.
- Valtorta, S. E., M. R. Gallardo, O. A. Sbodio, G. R. Revelli, C. Arakaki, P. E. Leva, M. Gaggiotti, E. J. Tercero. 2008. Water salinity effects on performance and rumen parameters of lactating grazing holstein cows. *Int. J. Biomet.* 52:239-247.
- Visscher, C. F., S. Witzmann, M. Beyerbach, J. Kamphues. 2013. Watering cattle (young bulls) with brackish water—a hazard due to its salt content?. *Tierärztliche Praxis Großtiere.* 41:363-370.
- Ward, E. H., y H. H. Patterson. 2004. Effects of thiamin supplementation on performance and health of growing steers consuming high sulfate water. *Proc. West. Sec. Am. Soc. Anim. Sci.* 55:375–378.
- Weeth, H. J., y A. L. Lesperance. 1965. Renal function of cattle under various water and salt loads. *J. Anim. Sci.* 24:441-447.
- Weeth, H. J., y D. L. Capps. 1972. Tolerance of growing cattle for sulfate-water. *J. Anim. Sci.* 34:256-260.
- Weeth, H. J., y J. E. Hunter. 1971. Drinking of sulfate-water by cattle. *J. Anim. Sci.* 32:277-281.
- Weeth, H. J., y L. H. Haverland. 1961. Tolerance of growing cattle for drinking water containing sodium chloride. *J. Anim. Sci.* 20: 518-521.
- Weeth, H. J., A. L. Lesperance, V. R. Bohman. 1968. Intermittent saline watering of growing beef heifers. *J. Anim. Sci.* 27:739-744.
- Weeth, H. J., L. H. Haverland, D. W. Cassard. 1960. Consumption of sodium chloride water by heifers. *J. Anim. Sci.* 19:845-851.
- West, J. W., C. E. Coppock, D. H. Nave, J. M. Labore, L. W. Greene, T. W. Odom. 1987. Effects of potassium carbonate and sodium bicarbonate on rumen function in lactating Holstein cows. *J. Dairy. Sci.* 70:81-90.

- Wickersham, T. A., E. C. Titgemeyer, R. C. Cochran, E. E. Wickersham, D. P. Gnad. 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., R. C. Cochran, E. C. Titgemeyer, C. G. Farmer, E. A. Klevesahl, J. I. Arroquy, D. E. Johnson, D. P. Gnad. 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. Technol.* 115:19-36.
- Wiedmeier, R. D., F. D. Provenza, E. A. Burritt. 2002. Exposure to ammoniated wheat straw as suckling calves improves performance of mature beef cows wintered on ammoniated wheat straw. *J. Anim. Sci.* 80:2340-2348.
- Wiedmeier, R. D., M. J. Arambel, R. C. Lamb, D. P. Marcinkowski. 1987. Effect of mineral salts, carbachol, and pilocarpine on nutrient digestibility and ruminal characteristics in cattle. *J. Dairy Sci.* 70:592:600.
- Wiedmeier, R. W., J. J. Villalba, A. Summers, F. D. Provenza. 2012. Eating a high fiber diet during pregnancy increases intake and digestibility of a high fiber diet by offspring in cattle. *Anim. Feed Sci. Tech.* 177:144-151.
- Wilson, A. D. 1966. The tolerance of sheep to sodium chloride in food or drinking water. *Aust. J. Agric. Res.* 17:503-514.
- Wilson, A. D. 1978. Water requirements of sheep. En: *Water in rangelands*. Ed. Howes, K. M. W., CSIRO, Melbourne. 178-189.
- Yousfi, I., H. B. Salem, D. Aouadi, S. Abidi. 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.
- Zimmerman, A. S. 2003. Sulphate salts affect water consumption: drinking behaviour and welfare of beef cattle. Tesis Doctoral. University of British Columbia.
- Zinn, R. A., E. Alvarez, M. Mendez, M. Montaño, E. Ramirez, Y. Shen. 1997. Influence of dietary sulfur level on growth performance and digestive function in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 75:1723-1728.

5. Hipótesis

En base al marco conceptual descripto se formularon las siguientes hipótesis:

- La exposición temprana de rumiantes a aguas de bebida con altas concentraciones de sales promueve el desarrollo de tolerancia al agua salobre. Se espera que el nivel de consumo, la digestibilidad del alimento, y el desempeño productivo de rumiantes bebiendo agua salada sea mayor en animales con experiencia que sin experiencia con agua salobre.

- El requerimiento proteico para maximizar la utilización de forrajes de baja calidad es mayor cuando el ganado bebe agua salobre. Se espera que la maximización del consumo y de digestión y fermentación ruminal en rumiantes consumiendo forrajes de baja calidad requiera de un nivel de suplementación proteica mayor con agua de bebida salada.

6. Objetivos

En base a las hipótesis formuladas, los objetivos específicos del presente trabajo de tesis fueron:

- Determinar el consumo, digestibilidad y el desempeño productivo de terneros expuestos a edades tempranas (gestación y primeros meses de vida) a agua de bebida con elevada concentración de sales o a agua de bebida con baja concentración de sales, cuando luego de la exposición son forzados a consumir agua de bebida con elevada concentración de sales.

- Evaluar el efecto de niveles incrementales de suplementación proteica (harina de soja) sobre el consumo, digestión y fermentación ruminal en novillos consumiendo forrajes de baja calidad y bebiendo aguas con elevados tenores salinos.

- Evaluar el impacto de la suplementación proteica sobre la utilización de forraje de baja calidad, balance de nitrógeno y función renal en corderos bebiendo agua con elevados tenores salinos.

CAPÍTULO II: Exposición temprana a agua salada y desempeño posterior en bovinos para carne

1. Resumen

En este estudio se realizaron 2 experimentos para evaluar el impacto de la exposición temprana a aguas con elevados tenores salinos sobre el desempeño posterior del ganado con agua salada. En el Exp. 1, 24 vacas con sus respectivos terneros fueron asignados al azar a uno de 2 tratamientos: exposición temprana a agua con elevado tenor salino [ETAS; 7.478 mg/l de sólidos totales disueltos (STD)] o a agua con bajo tenor salino (ETBS; 512 mg/l STD), cuando los terneros tenían entre 2 y 6 meses de edad. Posteriormente todos los terneros bebieron agua de bajo tenor salino por un lapso de 6 meses, y luego agua con elevado tenor salino por 30 d. Durante el último período ETAS tendió a consumir un 10% menos MS (CMS; $P = 0,07$) y un 22% menos de agua que ETBS (CA; $P < 0,01$). La digestibilidad de la MS (DMS; $P = 0,92$), parámetros sanguíneos (hemoglobina y hematocritos; $P > 0,13$), glucosa plasmática ($P = 0,18$), minerales en suero ($P > 0,08$) y aumento medio diario de peso (AMD; $P = 0,85$) no fueron afectados por los tratamientos. En el Exp. 2, 24 vaquillonas preñadas en el último mes de gestación fueron asignadas al azar a ETAS (10.827 mg/l STD) o ETBS (ETBS; 512 mg/l STD). El período de exposición finalizó cuando los terneros tuvieron 3 meses de edad. Luego todos los terneros bebieron agua con baja concentración salina durante 95 d, y posteriormente agua con alta concentración salina por 30 d. Durante el último período no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos para CMS ($P = 0,43$), CA ($P = 0,61$), DMS ($P = 0,92$), parámetros sanguíneos ($P > 0,42$), actividad de la renina plasmática (ARP; $P = 0,35$), y AMD ($P = 0,16$). Sin embargo, ETAS bebió menos ($P < 0,01$) agua salada que ETBS durante las 2 primeras horas después de un período de privación de 20 h. En líneas generales, bajo las condiciones de este estudio no se encontró evidencia que la experiencia temprana a agua con elevados tenores salinos mejore la tolerancia y el desempeño posterior en vacunos para carne. Sin embargo, el

consumo de agua reducido (Exp. 1) y el incremento en el umbral de sed (Exp. 2) de los animales expuestos tempranamente al agua salada requiere mayor consideración.

Palabras claves: vacunos para carne; experiencia temprana; actividad renina plasmática; tolerancia agua salada.

2. Introducción

Una adecuada calidad de agua de bebida para el ganado es esencial para mantener aceptables niveles de productividad (NRC, 2000). Sin embargo, en muchas regiones del mundo los rumiantes están obligados a beber aguas conteniendo elevadas concentraciones de sólidos totales disueltos (STD; Basán Nickisch, 2007; FAO, 2007). El agua salada causa reducciones en el consumo de agua y alimento, afectando el desempeño y salud del ganado (Weeth y Hunter, 1971; Loneragan y col., 2001; Ward y Patterson, 2004; Grout y col., 2006). Se ha sugerido que procesos neurológicos, fisiológicos y morfológicos son susceptibles de cambiar tempranamente en la vida, y pueden ser alterados de manera que los animales se adapten mejor al ambiente de crianza (Provenza y Balph, 1990). En este sentido, la exposición a un agua de bebida con elevados tenores salinos a una edad temprana podría inducir tolerancia, y mejorar el desempeño posterior de vacunos para carne bebiendo agua salada, principalmente a través de modificaciones en el funcionamiento renal. Aunque la nefrogénesis finaliza poco después del nacimiento, el riñón del recién nacido permanece funcionalmente primitivo con respecto a la capacidad de concentrar la orina (Little y McMahon, 2012).

Estudios previos en ratas y ovejas muestran que consumos elevados de sal durante la preñez y el período postnatal temprano pueden reducir el consumo de agua y alimento y el balance de sal en la descendencia, cuando ingieren la misma dieta con posterioridad (Alves da Silva y col., 2003; Digby y col., 2010a). Los autores sugirieron que los cambios inducidos están vinculados a alteraciones en el sistema renina-angiotensina (SRA). La descendencia de ovejas que pastorearon un arbusto de suelos salinos (20% NaCl) excretaron sal más rápido y

consumieron menos agua, comparado con la descendencia de ovejas que consumieron pasturas a base de trébol subterráneo, lo que fue atribuido a una menor actividad de la renina en las primeras (Chadwick y col., 2009a). Dado que el impacto negativo del agua salada sobre el desempeño animal depende en gran medida de los requerimientos de agua del animal (Patterson y Johnson, 2003), cualquier alteración de carácter permanente en el consumo de agua puede modificar la habilidad de los animales para tolerar agua salada.

En base a los antecedentes descriptos, la hipótesis propuesta establece que una experiencia temprana con aguas de elevados tenores salinos mejora la respuesta del animal al agua salada durante la vida productiva posterior. Consecuentemente, el objetivo de esta parte del trabajo de tesis fue determinar el consumo de alimento y agua, digestibilidad, parámetros sanguíneos y la ganancia de peso de terneros con experiencia temprana con agua de alto tenor salino o con agua de bajo tenor salino, cuando son obligados a beber agua de elevado tenor salino posteriormente en su vida productiva.

3. Materiales y Métodos

En los dos experimentos realizados (Exp. 1 y 2), se seleccionaron vacas con fechas de parición entre diciembre y primeros días de enero, de un rodeo de cría comercial (Braford × Criollo Argentino; Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria [INTA] Santiago del Estero, Argentina). Todas las vacas se criaron bajo las mismas condiciones ambientales, y ninguna de ellas había tenido experiencia previa con agua salada. Los animales fueron manejados según el protocolo aprobado por INTA para el cuidado y uso experimental de animales (INTA, 2013).

3.1 Diseño experimental:

Experimento 1: El experimento fue realizado con 24 parejas vacas-terneros, comenzando cuando los terneros promediaron 2 meses de edad y 78 ± 20 kg PV (media \pm DE). La edad de las vacas utilizadas fue no menor a 6 años con al menos 2 pariciones y con un peso promedio al inicio del experimento de 331 ± 41 kg PV. Doce parejas vacas-terneros fueron asignadas al azar a uno de los 2 tratamientos: exposición temprana a agua con elevado tenor

salino (ETAS) o a agua con bajo tenor salino (ETBS). El contenido de sólidos totales disueltos (STD) en ETAS fue de 7.478 mg/l, de los cuales 3.103 mg/l fueron sulfatos. Los mismos parámetros para ETBS fueron 512 mg/l y 146 mg/l respectivamente, la cual consistió de agua de represa. Para elaborar el agua ofrecida a ETAS se adicionó cloruro de sodio (NaCl) y sulfato de sodio (Na₂SO₄) al agua ofrecida a ETBS hasta lograr la concentración objetivo. El período de exposición a los tratamientos duró 105 d, durante el cual en los primeros 60 d los terneros estuvieron al pie de la madre. Posteriormente, los terneros fueron destetados y el período de exposición continuó hasta el d 105. Todas las parejas vaca-ternero fueron alimentadas con heno de alfalfa (*Medicago sativa*; 14% PB y 47% FDN) durante la lactación (primeros 60 d del período de exposición), y ya destetados los terneros recibieron una ración mezcla (39% heno de alfalfa, 40% grano maíz y 21% poroto de soja desactivada; 15% PB y 40% FDN) durante los últimos 45 d del período de exposición. Ambos grupos, ETAS y ETBS, tuvieron acceso *ad libitum* al agua de bebida y al alimento. Una vez que el período de exposición finalizó, todos los terneros pastorearon pasturas megatérmicas y bebieron agua con baja concentración de sales (período de recría) durante 6 meses. En este período un ternero de cada tratamiento fue removido del ensayo debido a problemas sanitarios (neumonía). Inmediatamente posterior al período de recría, 11 terneros (169 ± 24 kg de PV) de cada tratamiento fueron asignados a corrales individuales (2 × 3,5 m), donde se ofreció diariamente una ración (14% PB; 50% FDN) compuesta por 65% heno de alfalfa, 20,5% grano de maíz, 13% poroto de soja desactivada y 1,5% núcleo mineral (33% cal, 1,47% sulfato de cobre, 0,04% yodato de calcio, 0,014% carbonato de cobalto, 6,67% óxido de magnesio, 7,20% sulfato de zinc, 0,014% selenita sódica, 3,88% sulfato de hierro, 2,67% carbonato de calcio). La ración fue ofrecida una vez al día (0800 h) al 130% del consumo voluntario. A los terneros se les permitió adaptarse a los corrales durante 5 d consumiendo agua baja en sales. Inmediatamente después, se dio inicio al período de evaluación durante el cual ambos grupos fueron forzados a consumir agua con elevado nivel de sales (la misma calidad de agua a la que los terneros ETAS habían sido expuestos temprano en la vida) durante 30 d. El

consumo de alimento y agua de cada ternero se midió en forma diaria a lo largo del período de evaluación, mientras que la digestibilidad fue evaluada en 6 terneros de cada grupo. También se extrajeron muestras de sangre de todos los terneros al inicio (d 0) y al final del período de evaluación (d 30), para evaluar las concentraciones de hemoglobina y hematocritos (indicadores hematológicos), glucosa plasmática, y perfil mineral. Los terneros se pesaron los días 0, 113, 294 y 331 del experimento.

Experimento 2: Veinticuatro vaquillonas preñadas (327 ± 37 kg PV) fueron asignadas a uno de dos tratamientos de exposición: ETBS o ETAS. El contenido de sales en ETAS fue de 10.827 mg/l STD, de los cuales 146 mg/l eran sulfatos, mientras que los valores para ETBS fueron 512 mg/l y 146 mg/l, respectivamente. Para la elaboración del agua salada ofrecida a ETAS se adicionó NaCl al agua de represa ofrecida a ETBS hasta alcanzar los valores deseados. El período de exposición duró 135 d: últimos 30 d de gestación y los primeros 45 d de lactación, seguidos inmediatamente por 60 d de exposición de solo los terneros al agua salada. Durante la gestación y lactación las vacas fueron alimentadas con heno de pastura megatérmica (*Megathyrus maximus*, cv. Gatton; 7% PB y 78% FDN), mientras que a los terneros destetados precozmente se les ofreció un alimento comercial especialmente formulado para satisfacer sus requerimientos más heno de alfalfa hasta finalizar el período de exposición. Ambos grupos, ETAS y ETBS, tuvieron acceso *ad libitum* al agua y al alimento. Una vez que se cumplió con el período de exposición, todos los terneros fueron alimentados con una ración balanceada (17% PB y 48% FDN) y bebieron agua de bajo tenor salino durante un período de 95 d (período de recría). La dieta fue formulada con 60,5% heno de alfalfa, 2% poroto de soja desactivada, 15% grano de sorgo molido, 22% harina de soja, y 0,5% núcleo mineral (misma composición que Exp. 1). Inmediatamente después del período de recría, los terneros de ambos tratamientos ($n = 12$; 94 ± 17 kg PV) fueron asignados a corrales individuales ($2 \times 3,5$ m) y alimentados con la misma ración utilizada durante el período de recría. Se les permitió a los terneros adaptarse a los corrales por 5 d bebiendo agua con bajo tenor salino. Inmediatamente después comenzó el

período de evaluación, durante el cual ambos grupos fueron forzados a beber agua salada (similar calidad de agua a la que los terneros ETAS habían sido expuestos temprano en la vida; 12.614 mg/l STD de los cuales 480 mg/l eran sulfatos) durante 30 d. El día anterior al comienzo del período de evaluación (d 0), los terneros fueron privados del consumo de agua por un período de 20 h. Durante el d 1 del período de evaluación se evaluó el consumo de agua salada a las 1, 2, 6, 12 y 24 h post alimentación. En este experimento, el nivel de sed (motivación a beber) se consideró como el patrón de la ingesta inicial de agua, luego del período de privación de la misma. La ración fue ofrecida en el mismo horario que en el Exp. 1. Se registró el peso de los terneros los d 140, 231 y 265 del experimento.

3.2 Muestreo y mediciones:

En ambos experimentos se midió el consumo de alimento y de agua a lo largo del período de evaluación. El consumo de alimento se calculó restando el remanente de la ración ofertada en forma diaria, mientras que el consumo de agua se calculó por la diferencia de altura del pelo de agua en el bebedero de cada corral.

Durante el período de evaluación de los dos experimentos se colectaron muestras compuestas tanto del alimento ofertado como del remanente, justo antes del horario de comida, en proporciones iguales a través de los días. La digestibilidad del alimento ofrecido se determinó utilizando un marcador externo (LIPE®). Se colectaron muestras fecales de cada ternero (n = 6 Exp. 1; n = 8 Exp. 2) a intervalos de 6 h, entre los d 26 a 29 del período de evaluación, avanzando el tiempo de muestreo 4 h cada día con el objetivo de minimizar las variaciones diurnas en la excreción del marcador. Las muestras fecales diarias de cada ternero fueron finalmente reunidas en una muestra compuesta.

En ambos experimentos, se extrajeron muestras de sangre por punción de la vena yugular en los d 0 y 30 del período de evaluación. Inmediatamente después de la colección, las muestras de sangre se colocaron en tubos con EDTA para determinar indicadores

hematológicos, glucosa y ARP (únicamente en el Exp. 2), y en tubos sin anticoagulante para la determinación de minerales.

La evaluación del cambio de peso vivo se realizó mediante pesadas llevadas a cabo a los d 113 y 331 (Exp. 1) y los d 140 y 265 (Exp. 2). Para evitar alteraciones en los registros de peso debido a diferencias en la retención corporal de agua entre tratamientos, una semana previa a la pesada se ofreció a los animales de ambos tratamientos agua de bajos tenores salinos.

3.3 Procesamiento de las muestras y análisis de laboratorio:

Las muestras de alimento, remanente y heces fueron parcialmente secadas en estufa de aire forzado (96 h a 55 °C), pesadas y molidas (molino Wiley No. 4, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ) a través de una malla de 1 mm. Las muestras parcialmente secas de alimento, remanente, y heces fueron luego secadas por 24 h a 105 °C para determinar el contenido de MS final. En las muestras de alimento se determinó FDN (ANKOM-Fiber Analyzer 200, ANKOM Technology, Fairport, NY, USA) usando el procedimiento descrito por Van Soest y col. (1991) con la adición de sulfito de sodio y N total según el procedimiento Kjeldahl (AOAC, 1990).

Para la cuantificación del marcador externo LIPE®, las muestras fecales procesadas fueron analizadas directamente mediante un espectrofotómetro infrarrojo equipado con un dispositivo ATR (Dr. Eloisa O. S. Saliba; Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, MG, Brazil).

La glucosa plasmática se determinó espectrofotométricamente por el método GOD/PAP (espectrofotómetro Metrolab 330), mientras que para indicadores hematológicos se utilizó un analizador automático Mindray BC-5300. Para las determinaciones séricas de Na, K y Ca se utilizó el analizador de electrolitos semiautomático Diestro® 130 (JS Medicina Electrónica, Villa Martelli, Bs. As., Argentina). El P (método UV) y Mg (método colorimétrico) se analizaron con el analizador químico Roche Hitachi 912 (Roche, Basel, Switzerland). La actividad de la renina

plasmática fue medida indirectamente mediante la generación de Angiotensina I empleando un kit comercial (Angiotensin 1 RIA Kit; Beckman Coulter, Villa Martelli, Bs. As., Argentina).

3.4 Análisis estadístico:

Los datos de ambos experimentos se analizaron según un diseño completamente aleatorizado. Los resultados de consumo y parámetros sanguíneos fueron evaluados como medidas repetidas en el tiempo usando el procedimiento MIXED de SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). El tipo de estructura de covarianza para las medidas repetidas fue la simetría compuestas (TYPE = CS). Para satisfacer los supuestos de normalidad, los valores de ARP tuvieron que ser transformados a logaritmo natural. La digestibilidad y AMD se analizaron utilizando el procedimiento GLM de SAS. En ambos modelos, las comparaciones de las medias de los tratamientos se testearon usando las opciones LSMEANS de SAS, siendo declaradas estadísticamente significativas las medias de los tratamientos con $P < 0,05$.

4. Resultados

4.1 Experimento 1:

4.1.1. Ganancia de peso vivo

No hubo efecto de tratamiento sobre el AMD de los terneros en ninguno de los períodos del experimento (período de exposición: 0,33 vs. 0,27 kg/d, EEM = 0,03, $P = 0,11$; período de recría: 0,31 vs. 0,31 kg/d, EEM = 0,02; $P = 0,94$; período de evaluación: 0,39 vs. 0,38 kg/d, EEM = 0,05; $P = 0,85$).

4.1.2. Consumo y digestibilidad del alimento

Los terneros ETAS tendieron a consumir un 10% menos de alimento (CMS, $P = 0,07$) y consumieron un 22% menos agua (CA, $P < 0,01$; Tabla 1) que los terneros ETBS a lo largo del período de evaluación. Sin embargo, a pesar de estas diferencias la relación CA : CMS no difirió ($P = 0,15$) entre los tratamientos. La exposición temprana a aguas de elevados tenores salinos no afectó la digestibilidad de la MS ($P = 0,92$). Ambos grupos de terneros tuvieron una digestibilidad del alimento de alrededor de 73%.

4.1.3. Indicadores hematológicos, glucosa y minerales séricos

No hubo efecto de la interacción tratamiento × día de colección para el contenido de hemoglobina, hematocritos, glucosa y minerales ($P > 0,16$), excepto para la concentración de Na donde la interacción tendió a ser significativa ($P = 0,07$). Ninguna de las variables sanguíneas analizadas en el estudio fueron afectadas por los tratamientos ($P > 0,13$), excepto Na en el d 0 ($P < 0,01$; Tabla 2). Los hematocritos y la concentración de glucosa fueron más altas al final del período de evaluación, mientras que el Ca, P, Mg y K resultaron mayores al inicio del período de evaluación.

4.2 Experimento 2:

4.2.1. Ganancia de peso vivo

En este experimento, la exposición temprana a agua de bebida salada no alteró el desempeño posterior de los terneros. El AMD de ETBS y ETAS fue similar durante el período de recría (0,31 vs. 0,34 kg/d, EEM = 0,04, $P = 0,66$) y durante el período de evaluación (0,30 vs. 0,20 kg/d, EEM = 0,05, $P = 0,16$).

4.2.2. Tasa de consumo de agua después de la privación al consumo de agua

La interacción tratamiento × hora afectó significativamente la tasa de consumo de agua ($P < 0,01$) después del período de 20 h de privación al consumo de agua (Figura 1). Los terneros ETBS bebieron más que los ETAS ($P < 0,01$) durante la primera hora posterior a la privación al agua. En la h 2 el consumo declinó bruscamente; sin embargo, la reducción fue más notable en ETBS que en los terneros ETAS ($P < 0,01$). De ahí en adelante hasta el final del día, no hubo diferencias en la tasa de consumo entre ambos grupos de terneros ($P = 0,87$).

4.2.3. Consumo y digestibilidad del alimento

No se observaron diferencias significativas para el CMS ($P = 0,43$), CA ($P = 0,61$) y CA : CMS ($P = 0,18$) entre los tratamientos durante el período de evaluación (Tabla 1). Similar a

los resultados del Exp. 1, no hubo diferencias en la digestibilidad de la MS entre tratamientos ($P = 0,92$).

4.2.4. Indicadores hematológicos, glucosa y minerales séricos

No se observaron efecto de la interacción tratamiento \times día para los indicadores hematológicos, la concentración de glucosa y minerales en sangre ($P > 0,35$; Tabla 2), excepto para Mg ($P < 0,03$). Ningún parámetro sanguíneo analizado fue afectado por los tratamientos ($P > 0,42$), aunque hubo efecto de día ($P < 0,04$). La hemoglobina, los hematocritos y las concentraciones séricas de Na, Ca y K fueron mayores al final del período de evaluación, mientras que las concentraciones de glucosa, P y Mg fueron más altas al comienzo del período de evaluación.

4.2.5. Actividad de la renina plasmática

Los tratamientos no afectaron la actividad de la renina plasmática (ARP; $P = 0,35$), aunque se observó un efecto significativo de día ($P < 0,01$; Tabla 3). Al final del período de evaluación la ARP resultó ser menor que al inicio del período de evaluación en ambos grupos de terneros.

5. Discusión

En general, bajo las condiciones experimentales de este estudio no se encontró evidencia que la exposición temprana del ganado al consumo de agua con elevado contenido de sales mejore el desempeño en la vida adulta cuando se enfrentan a aguas de similares características. Sin embargo, el consumo de agua reducido (Exp. 1) y el incremento en el umbral de sed (Exp. 2) de los animales expuestos tempranamente en su vida a aguas de bebida salada merece ser considerado, como se discute más adelante.

En el Exp. 1, durante los 30 d del período de evaluación, los terneros ETAS bebieron menos agua salada y tendieron a consumir menos alimento que los terneros ETBS. Esta observación indicaría que la exposición temprana al agua salada tiene potencial para producir cambios fisiológicos relacionados con la regulación del consumo de agua. Trabajos anteriores

(Curtis y col., 2004; McBride y col., 2006; Chadwick y col., 2009a; Digby y col., 2010a) han demostrado que el consumo de dietas altas en sales durante la gestación y períodos postparto temprano pueden afectar el consumo de agua y alimento de la descendencia en la vida adulta, lo que parece estar relacionado a alteraciones en el sistema renina-angiotensina (SRA). Una reducción en la secreción renal de renina deprime el consumo de agua a través de niveles circulantes de angiotensina II disminuidos (Ang II; péptido bioactivo con potente acción vasoconstrictora, sintetizado a partir de la liberación de la hormona renina, Fitzsimons, 1998). Szczepanska-Sadowska y col. (2003) mostraron que ratas transgénicas con altos niveles de Ang II en el hipotálamo tuvieron mayores consumos de agua y alimento. Por lo tanto, el menor consumo de agua observado en los terneros ETAS puede haber estado asociado con la reducción en los niveles basales de renina. Además, durante el período de exposición, los terneros ETAS bebieron un 18% menos de agua que ETBS (datos no reportados), generando condiciones hipertónicas que podrían haber alterado los puntos de ajuste de los mecanismos de osmoregulación para controlar el consumo de agua (Chadwick y col., 2009a; Desai y col., 2003).

Por otro lado, la similitud en el consumo de alimento entre ETAS y ETBS durante el período de evaluación podría haberse debido a que la reducción en el consumo de agua (aproximadamente 22%) observada en los terneros ETAS no fue suficientemente para afectar el consumo de alimento (Silanikove, 1992; Brew y col., 2011). Utley y col. (1970) observaron un 20% de reducción en el consumo de alimento en novillos cuando el suministro de agua de bebida se limitó al 60% del consumo voluntario, pero no encontraron diferencias en el consumo de alimento cuando el consumo de agua fue el 80% del consumo voluntario. Durante el período de exposición los terneros ETAS y ETBS consumieron la misma cantidad de alimento (datos no reportados); por lo tanto, se descarta que las respuestas observadas hayan sido debido a una subnutrición a edades tempranas.

En el Exp. 2 no se observaron diferencias significativas durante el período de evaluación en el consumo de agua y alimento entre tratamientos. Sin embargo, al comienzo del

período de evaluación, el nivel basal de ARP fue un 30% más bajo en los terneros ETAS que en los ETBS (1,12 vs 1,57 ng/ml h, respectivamente), mientras que los niveles de ARP resultaron similares en ambos grupos experimentales después de que bebieron agua salada durante 30 d. Los menores niveles de ARP pueden considerarse como una respuesta esperada debido al incremento en el consumo de sal durante el período de evaluación, la falta de diferencias sugiere que ambos grupos de terneros tuvieron la misma habilidad para excretar sal vía urinaria. Si es así, esto podría explicar porque no se encontraron diferencias en los consumos de agua y alimento entre ambos grupos de terneros. Del mismo modo, Chadwick y col. (2009a) observaron una reducción del 40% en los niveles basales de ARP en las crías de ovejas que habían consumido una ración alta en sal durante la gestación y la lactación, aunque los niveles de ARP fueron similares a aquellos de las ovejas del grupo control después de consumir la dieta alta en sal. Por otro lado, en el presente estudio se observó un menor consumo inicial de agua salada en ETAS con respecto a ETBS, después de un período de privación de 20 h de acceso al agua, indicando un aumento en el umbral de sed en los primeros. La potente acción dipsógena de la Ang II a través de la activación del SRA es bien conocido (Fitzsimons, 1998; Mckinley y Johnson, 2004; Geerling y Loewy, 2008). La influencia de la Ang II sobre el comportamiento ingestivo de agua ha sido claramente demostrado mediante infusiones en el ventrículo lateral de ovejas y vacas (Weisinger y col., 1986; Blair-West y col., 1989; Fitzsimons, 1998). Las ovejas con infusiones cerebrales de Ang II bebieron 1,4 - 2,8 veces más agua que los animales control, demostrando que la Ang II estimula los mecanismos relacionados con la sed (Sunagawa y col., 2001). La privación al consumo de agua – en rumiantes – activa el SRA (Silanikove, 1994), incrementa la Ang II circulante (Parker y col., 2004), demostrando su rol en el estímulo del consumo de agua (Fitzsimons, 1998). Además, una disminución de la Ang II en sangre a través de un inhibidor del SRA redujo el apetito de agua (Blair-West y col., 1988). Por lo tanto, el comportamiento de los terneros en el Exp. 2, posterior a la restauración de la provisión de agua de bebida, podría ser explicado por la diferencia en niveles basales de ARP entre tratamientos. En este sentido, el

consumo de agua salada durante la gestación y/o el período postnatal temprano alteraría el umbral de sed de la descendencia. Sin embargo, no hubo diferencias en el consumo de agua a lo largo de los 30 d del período de evaluación, lo que podría ser explicado por una disminución en la sensibilidad del SRA al agua salada en ETAS como fue comentado anteriormente. Digby y col. (2010b), quienes reportaron resultados similares en cuanto a la alteración de los umbrales de sed, observaron una disminución en la concentración de aldosterona en corderos hijos de ovejas alimentadas con dietas de elevado contenido de sal con respecto a los corderos de ovejas del control. Esta capacidad de respuesta disminuida de la aldosterona podría estar relacionada con la supresión del SRA. De acuerdo a esto, es posible que otros factores además de un elevado consumo de sal a una edad temprana module el tipo de respuesta que exprese el animal cuando se expone al consumo de aguas o dietas altas en sales durante la vida adulta (Chadwick y col., 2009a 2009b).

Los experimentos realizados en el presente estudio no solo difirieron en el período de exposición (postnatal en Exp. 1 y pre y postnatal en Exp. 2), sino también en el tipo de sales disueltas en el agua de bebida utilizada. En el Exp. 2 los terneros probablemente pudieron incrementar su consumo de agua para mantener la homeostasis corporal durante el período de exposición, mientras que en el Exp. 1 los terneros no tuvieron esa posibilidad debido a los elevados niveles de sulfatos en el agua. Este aspecto pudo haber conducido a diferentes estados de tonicidad plasmática (Ross y col., 2005; Ross y Desai, 2005), lo que explicaría diferencias (Exp. 1) o no (Exp. 2) en el consumo del agua salada entre los terneros ETAS y ETBS.

Los cambios en el consumo de agua y el umbral de sed observados en este estudio, y también en estudios previos (Chadwick y col., 2009a; Digby y col., 2010b), son probablemente importantes durante el período de adaptación a aguas con elevados tenores salinos o en situaciones donde el consumo de agua está restringido por varias horas. Prasetiyono y col. (2000) encontraron una correlación negativa entre el nivel de sed (definido como el consumo de agua durante 30 min. luego de 2 h de alimentación) y el consumo de alimento en cabras

privadas del consumo agua, mientras que Sunagawa y col. (2001) reportaron reducciones significativas en el consumo de alimento como consecuencia del efecto dipsógeno en el cerebro de ovejas infundadas con Ang II. En un experimento más reciente, Sunagawa y col. (2007) demostraron que infusiones intra-cerebroventriculares con somatostatina (inhibe la secreción de Ang II; Weisinger y col., 1991) incrementaron el consumo de alimento en cabras alimentadas con forraje seco. Estos autores sugirieron que la disminución en el consumo durante las primeras dos horas de alimentación fue causada por los péptidos controladores de la sed. Entonces, puede ser posible que animales que registren mayores umbrales de sed (debido a niveles basales de renina menores) puedan consumir más alimento cuando se encuentren privados de agua para beber por períodos cortos. A pesar de lo descrito previamente, la falta de diferencias en los parámetros sanguíneos entre ETAS y ETBS sugiere que cualquier alteración producida en los mecanismos de excreción de sales es contrarrestada en el corto plazo. En un estudio reciente, Tay y col. (2012) no observaron cambios en la habilidad para excretar sal en corderos de ovejas alimentadas con una dieta alta en sal durante la gestación; a pesar del hecho que la nefrogénesis resultó afectada, el riñón pudo ser capaz de compensar la reducción en el número de glomérulos incrementando el tamaño de estos.

6. Conclusión

Se concluye que, bajo las condiciones experimentales del presente estudio, la exposición temprana al consumo de aguas con elevados tenores salinos no indujo a una mejoría en la tolerancia y posterior desempeño de terneros consumiendo agua salada. Sin embargo, el consumo de agua reducido (Exp. 1) y el incremento en el umbral de sed (Exp. 2) en los animales expuestos tempranamente al consumo de agua salada merece mayor consideración, debido tanto a implicancias teóricas como prácticas.

7. Bibliografía

- Alves da Silva, A., I. L. de Noronha, I. B. de Oliveira, D. M. C. Malheiros, J. C. Heimann. 2003. Renin-angiotensin system function and blood pressure in adult rats after perinatal salt overload. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases* 13:133-139.
- AOAC (Association of Analytical Chemists), 1990. Official methods of analysis, 15th Ed. AOAC, Arlington, VA, USA.
- Basán Nickisch, M., 2007. Manejo de los recursos hídricos en zonas áridas y semiáridas para áreas de secano. Ed. INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Blair-West, J. R., D. A. Denton, M. J. McKinley, R. S. Weisinger. 1988. Angiotensin-related sodium appetite and thirst in cattle. *Am. J. Physiol.* 255:205-211.
- Blair-West, J. R., D. A. Denton, M. J. McKinley, R. S. Weisinger. 1989. Sodium appetite and thirst in cattle subjected to dehydration. *Am. J. Physiol.* 257:1212-1218.
- Brew, M. N., R. O. Myer, M. J. Hersom, J. N. Carter, M. A. Elzo, G. R. Hansen, D. G. Riley. 2011. Water intake and factors affecting water intake of growing beef cattle. *Livest. Sci.* 140:297-300.
- Chadwick, M. A., P. E. Vercoe, I. H. Williams, D. K. Revell. 2009a. Dietary exposure of pregnant ewes to salt dictates how their offspring respond to salt. *Physiol. Behav.* 97:437-445.
- Chadwick, M. A., P. E. Vercoe, I. H. Williams, D. K. Revell. 2009b. Programming sheep production on saltbush: adaptations of offspring from ewes that consumed high amounts of salt during pregnancy and early lactation. *Anim. Prod. Sci.* 49:311-317.
- Curtis, K. S., E. G. Krause, D. L. Wong, R. J. Contreras. 2004. Gestational and early postnatal dietary NaCl levels affect NaCl intake, but not stimulated water intake, by adult rats. *Am. J. Physiol.* 286:1043-1050.
- Desai, M., C. Guerra, S. Wang, M. G. Ross. 2003. Programming of hypertonicity in neonatal lambs: resetting of the threshold. *Endocrinology* 144:4332-4337.
- Digby, S. N., D. Blache, D. G. Masters, D. K. Revell. 2010a. Responses to saline drinking water in offspring born to ewes fed high salt during pregnancy. *Small Ruminant Res.* 91:87-92.
- Digby, S. N., D. G. Masters, D. Blache, P. I. Hynd, D. K. Revell. 2010b. Offspring born to ewes fed high salt during pregnancy have altered responses to oral salt loads. *Animal* 4:81-88.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2007. Water quality for livestock and poultry. In: Water quality for agriculture <http://www.fao.org/docrep/003/T0234E/T0234E07.htm> (Acceso 29 Septiembre 2011).
- Fitzsimons, J. T. 1998. Angiotensin, thirst and sodium appetite. *Physiol. Reviews* 78:583-686.

- Geerling, J. C., y A. D. Loewy. 2008. Central regulation of sodium appetite. *Exp. Physiol.* 93:177-209.
- Grout, A. S., D. M. Veira, D. M. Weary, M. A. G. von Keyserlingk, D. Fraser. 2006. Differential effects of sodium and magnesium sulfate on water consumption by beef cattle. *J. Anim. Sci.* 84:1252-1258.
- 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> (Acceso 19 Febrero 2013).
- Little, M. H., y A. P. McMahon. 2012. Mammalian kidney development: Principles, progress, and projections. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 4: a008300.
- Loneragan, G. H., J. J. Wagner, D. H. Gould, F. B. Garry, M. A. Thoren. 2001. Effects of water sulfate concentration on performance, water intake, and carcass characteristics of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 79:2941-2948.
- McBride, S. M., B. Culver, F. W. Flynn. 2006. Prenatal and early postnatal dietary sodium restriction sensitizes the adult rat to amphetamines. *Am. J. Physiol.* 291:1192-1199.
- McKinley, M. J., y A. K. Johnson. 2004. The physiological regulation of thirst and fluid intake. *Physiology* 19:1-6.
- NRC. 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th Rev. Ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Parker, A. J., G. P. Hamlin, C. J. Coleman, L. A. Fitzpatrick. 2004. Excess cortisol interferes with a principal mechanism of resistance to dehydration in *Bos indicus* steers. *J. Anim. Sci.* 82:1037-1045.
- Patterson, T., y P. Johnson. 2003. Effects of water quality on beef cattle. Proceedings, the Range beef cow symposium XVIII, Mitchell, Nebraska.
- Prasetyono, B. W. H. E., K. Sunagawa, A. Shinjo, S. Shiroma. 2000. Physiological relationship between thirst level and feed intake in goats fed on alfalfa hay cubes. *A. Australas. J. Anim. Sci.* 13:1536-1541.
- Provenza, F. D., y D. F. Balph. 1990. Applicability of five diet-selection models to various foraging challenges ruminants encounters. En: R. N. Hughes (Editor), *Behavioural Mechanisms of Food Selection*. NATO ASI Series G: Eco. Sci., Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg, Germany. 20:423-459.
- Ross, M. G., y M. Desai. 2005. Gestational programming: population survival effects of drought and famine during pregnancy. *Am. J. Physiol.* 288:25-33.

- Ross, M. G., M. Desai, C. Guerra, S. Wang. 2005. Prenatal programming of hypernatremia and hypertension in neonatal lambs. *Am. J. Physiol.* 288:97-103.
- Silanikove, N. 1992. Effects of water scarcity and hot environment on appetite and digestion in ruminants: a review. *Livest. Prod. Sci.* 30:175-194.
- Silanikove, N. 1994. The struggle to maintain hydration and osmoregulation in animals experiencing severe dehydration and rapid rehydration: the story of ruminants. *Exp. Physiol.* 79:281-300.
- Sunagawa, K., R. S. Weisinger, M. J. McKinley, B. S. Purcell, C. Thomson, P. L. Burns. 2001. The role of angiotensin II in the central regulation of feed intake in sheep. *Can. J. Anim. Sci.* 81:215-221.
- Sunagawa, K., T. Ooshiro, Y. Murase, R. Hazama, I. Nagamine. 2007. Mechanisms controlling feed intake in large-type goats fed on dry forage. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 20:1182-1189.
- Szczepanska-Sadowska, E., P. Paczwa, J. Dobruch. 2003. Enhanced food and water intake in renin transgenic rats. *J. Physiol. Pharmacol.* 54:81-88.
- Tay, S. H., D. Blache, K. Gregg, D. K. Revell. 2012. Consumption of a high-salt diet by ewes during pregnancy alters nephrogenesis in 5-month-old offspring. *Animal* 6:1803-1810.
- Utley, P. R., N. W. Bradley, J. A. Boling. 1970. Effect of restricted water intake on feed intake, nutrient digestibility and nitrogen metabolism in steers. *J. Anim. Sci.* 31:130-135.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583–3597.
- Ward, E. H., y H. H. Patterson. 2004. Effects of thiamin supplementation on performance and health of growing steers consuming high sulfate water. *J. Anim. Sci.* 55:375-378.
- Weeth, H. J., y J. E. Hunter. 1971. Drinking of sulfate-water by cattle. *J. Anim. Sci.* 32:277-281.
- Weisinger, R. S., D. A. Denton, M. J. McKinley, A. F. Muller, E. Tarjan. 1986. Angiotensin and Na appetite of sheep. *Am. J. Physiol.* 251:690-699.
- Weisinger, R. S., J. R. Blair-West, D. A. Denton, E. Tarjan. 1991. Central administration of somatostatin suppresses the stimulated sodium intake of sheep. *Brain Res.* 543:213-218.

Tabla 1. Consumo de MS (CMS) y agua (CA), relación CA : CMS y digestibilidad de la MS total (DMS) de terneros con (ETAS) o sin (ETBS) experiencia temprana con agua de bebida salada.

Item	ETBS	ETAS	EEM	P-valor
Exp. 1				
CMS ¹ , g/kg PV ^{0.75}	99,5	89,9	3,62	0,07
CA ¹ , g/kg PV ^{0.75}	455,3	352,8	24,56	<0,01
CA : CMS ¹	4,8	4,3	0,23	0,15
DMS ² , g/kg MS	732	730	0,01	0,92
Exp. 2				
CMS ¹ , g/kg PV ^{0.75}	74,3	78,1	3,37	0,43
CA ¹ , g/kg PV ^{0.75}	622,4	600,2	30,51	0,61
CA : CMS ¹	9,4	8,4	0,55	0,18
DMS ² , g/kg MS	730	730	0,01	0,92

¹ Exp. 1: n = 11; Exp. 2: n = 12.

² Exp. 1: n = 6; Exp. 2: n = 8.

Tabla 2. Parámetros sanguíneos de terneros con (ETAS) o sin (ETBS) experiencia temprana con agua de bebida salada.

Item ²	Día 0 ¹			Día 30			EEM
	ETBS	ETAS	P-valor	ETBS	ETAS	P-valor	
Exp. 1							
Hemoglobina, g/dl	13,6	13,9	0,54	13,8	14,5	0,13	0,30
Hematocrito, %	40,6	41,5	0,49	42,0	44,3	0,10	0,93
Glucosa, mg /dl	65,4	62,6	0,45	72,3	66,7	0,15	2,61
Na, mg/100 ml	446,2	383,8	0,01	427,1	432,7	0,81	16,57
Ca, mg/100 ml	8,1	8,1	0,94	7,5	8,0	0,16	0,24
P, mg/100 ml	11,1	11,7	0,20	8,1	8,4	0,42	0,32
Mg, mg/100 ml	1,8	2,0	0,25	1,6	1,6	0,90	0,11
K, mg/ 100 ml	24,2	22,9	0,39	20,3	20,8	0,75	1,05
Exp. 2							
Hemoglobina, g/dl	10,6	10,5	0,93	13,3	13,8	0,38	0,38
Hematocrito, %	33,4	33,0	0,80	41,3	42,4	0,46	1,04
Glucosa, mg /dl	73,8	71,4	0,75	64,6	60,0	0,53	5,38
Na, mg/100 ml	311,1	308,6	0,43	320,1	320,5	0,9	2,19
Ca, mg/100 ml	9,8	10,1	0,38	10,6	10,7	0,68	0,20
P, mg/100 ml	7,0	6,9	0,7	6,4	6,5	0,82	0,26
Mg, mg/100 ml	2,5	2,3	0,10	1,6	1,7	0,51	0,08
K, mg/100 ml	19,12	19,4	0,78	24,3	24,8	0,57	0,66

¹ Día 0 = inicio período evaluación; Día 30 = fin período evaluación.

² Exp. 1: n = 11; Exp. 2: n = 12.

Tabla 3. Actividad de la renina plasmática (ARP) de terneros con (ETAS) o sin (ETBS) experiencia temprana con agua de bebida salada (Exp. 2). Efectos: Trat., $P = 0,35$; Día, $P < 0,01$; Trat. \times Día, $P = 0,38$.

Item ¹	ETBS	ETAS	EEM	P-valor
	Log _e ³ (ng/ml.h) ⁴			
Día 0 ²	0,34 (1,57)	0,08 (1,12)	0,20	0,21
Día 30	-0,79 (0,45)	-0,86 (0,42)	0,20	0,75

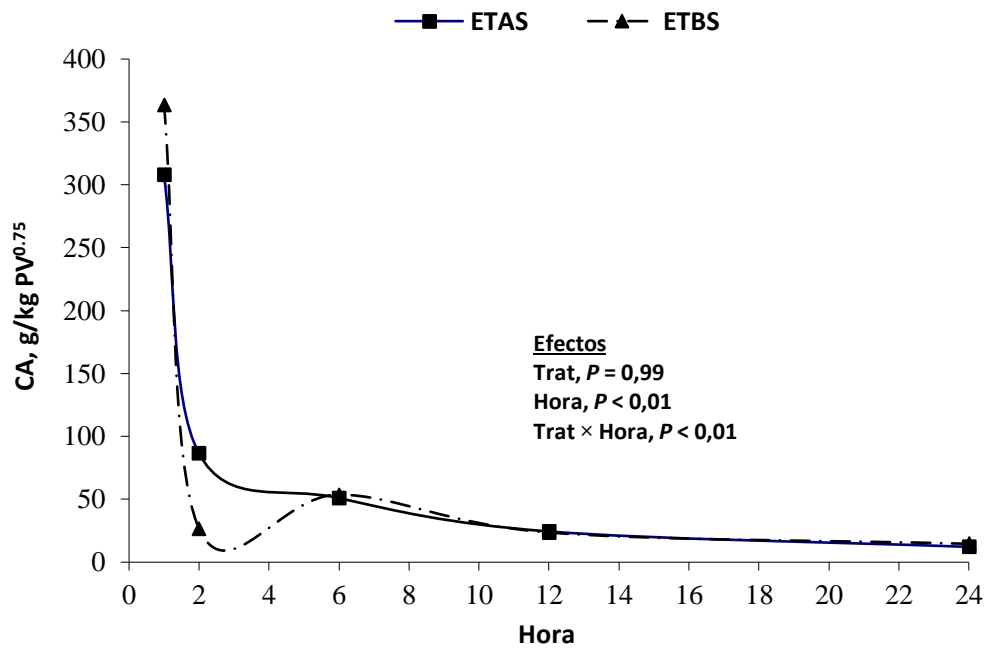
¹ n = 12.

² Día 0= inicio período evaluación; Día 30= fin período evaluación.

³ Los datos de ARP fueron transformados a logaritmo natural.

⁴ Las medias fueron retransformadas.

Figura 1. Consumo de agua (CA) después de 20 h de privación al consumo de agua de terneros con (ETAS) o sin (ETBS) experiencia temprana con agua de bebida salada (Exp. 2). Cada valor representa la media de 12 terneros.



CAPÍTULO III: Efecto de la suplementación proteica sobre la utilización de forraje de baja calidad en novillos bebiendo agua salada

1. Resumen

El objetivo de esta parte del trabajo de tesis fue evaluar el impacto de la suplementación de heno de pastura megatérmica (*Megathyrus maximus*, cv. Gatton; 7,0% PB y 81,8% FDN) con niveles crecientes de harina de soja (HS; 45,7% PB), en combinación con agua con bajo (TSB) o alto tenor salino (TSA). Se utilizaron 6 novillos fistulados de rumen (375 ± 43 kg PV), en un experimento crossover de 6 tratamientos por 4 períodos. Los tratamientos se organizaron con una estructura factorial de 2×3 , con 2 concentraciones de sales en el agua de bebida (TSB y TSA: 786 y 6.473 mg/l de sólidos totales disueltos [STD], respectivamente) y 3 niveles de HS (0, 0,2 y 0,4% PV/d). Después de 15 d de adaptación a los tratamientos, los períodos consistieron de 5 d para determinación del consumo y digestibilidad, 1 d para monitoreo de parámetros ruminales, 1 d para evacuación ruminal, y 1 d para extracción de sangre. La interacción HS \times agua resultó significativa ($P < 0,05$) para la mayoría de las variables de consumo evaluadas, excepto para el consumo de MO total digestible (CMOTD; $P = 0,38$) y FDN total digestible (CFDNTD; $P = 0,32$). A mayores niveles de suplementación con HS, el consumo de MO del forraje (CMOF), FDN total (CFDNT) y el consumo de agua (CA) tendieron a estabilizarse en TSB, mientras que esto no fue observado en TSA. El CMOTD aumentó linealmente ($P = 0,01$) y el CFDNTD tendió a aumentar ($P = 0,09$) en respuesta a incrementos en HS. La digestibilidad de la MO total (DMOT) y de la FDN total (DFDNT) no fueron afectadas por los tratamientos ($P > 0,21$). La tasa de pasaje de la ceniza insoluble en detergente ácido se incrementó linealmente ($P < 0,01$) en respuesta a HS, aunque no fue alterada por la calidad del agua ($P = 0,98$). La concentración total de AGV y el pH ruminal no fueron afectados ($P > 0,60$ y $P > 0,31$, respectivamente) por los tratamientos. El nivel de amonio ruminal aumentó linealmente con la suplementación HS ($P < 0,01$), pero no fue modificado por la calidad del agua ($P = 0,25$). Sin embargo, el amonio ruminal tendió ($P = 0,09$) a ser mayor en TSA con la suplementación de

HS al 0,2% PV. No se observó interacción para el nitrógeno ureico plasmático (NUP; $P = 0,20$). Tanto la HS como la calidad del agua afectaron a NUP ($P = 0,05$ y $P < 0,01$, respectivamente). Sin embargo, no se observaron diferencias en NUP entre TSA y TSB al nivel de suplementación con HS al 0,4% PV ($P = 0,30$). En conclusión, altos niveles de suplementación con HS (0,4% PV/d) revirtieron el efecto detrimental de elevados niveles de TSD en agua de bebida sobre el consumo de forraje de baja calidad en novillos.

Palabras claves: ganado para carne, digestión, heno de pastura, consumo, agua salada, sulfato.

2. Introducción

En áreas subtropicales áridas y semiáridas de Argentina y de otras regiones del mundo, el agua salada (Basán-Nickisch, 2007; FAO, 2007) y los forrajes de baja calidad durante la estación seca constituyen limitantes para el logro de niveles productivos adecuados en ganado para carne. En la bibliografía está bien documentado el impacto positivo de la suplementación proteica sobre la utilización de los forrajes de baja calidad (Caton y col., 1988; Guthrie y Wagner, 1988; Cochran y col., 1998). Por otro lado, estudios previos han mostrado los efectos adversos del agua salada sobre el consumo de alimento y agua en el ganado (Weeth y Hunter, 1971; Loneragan y col., 2001; Grout y col., 2006). Sin embargo, el efecto de la interacción entre la suplementación proteica y el agua salada sobre la utilización de forrajes de baja calidad por el ganado no ha sido estudiado.

Cuando los rumiantes son alimentados con forrajes de baja calidad, los riñones juegan un rol significativo en el ahorro y reciclaje de N. Ovejas consumiendo dietas deficientes en N mostraron menor filtración plasmática (Leng y col., 1985; Cirio y Boivin, 1990), y una mayor reabsorción de urea en los túbulos contorneados distales de los riñones (Isozaki y col., 1994; Starke y col., 2012). No obstante, la capacidad del riñón de reabsorber N puede ser afectada por consumos elevados de sal. Godwin y Williams (1984) y Meintjes y Engelbrecht (2004) observaron una mayor excreción urinaria de N y menor concentración de N ureico en plasma (NUP) en

ovejas a las que se les suministró dietas con contenidos elevados de cloruro de sodio (NaCl). Por lo tanto, el consumo de agua salada, además de deprimir el consumo de alimento y agua, podría limitar la capacidad de los rumiantes para utilizar forrajes deficientes en N.

En base a los antecedentes se plantea la hipótesis que la suplementación proteica requerida para maximizar la utilización de los forrajes de baja calidad es mayor cuando el ganado está bebiendo agua salada. Consecuentemente, el objetivo de esta parte del trabajo de tesis fue determinar el impacto de la suplementación con niveles crecientes de suplementación harina de soja (HS; suplementación proteica) sobre el consumo, digestión y parámetros ruminales, en novillos alimentados con forraje de baja calidad, cuando consumen agua de bebida con alto o bajo tenor salino.

3. Materiales y Métodos

Los animales experimentales fueron manejados de acuerdo al protocolo institucional aprobado por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) para el cuidado y uso de animales en experimentación (INTA, 2013).

3.1. Diseño experimental:

Los tratamientos experimentales fueron aplicados de acuerdo a un diseño crossover de 4 períodos. Novillos fistulados en rumen ($n = 6$; 375 ± 43 kg PV) fueron asignados al azar a corrales individuales ($2 \times 3,5$ m) y alimentados con heno molido (malla 40×40 mm) de forraje de baja calidad (*Megathyrus maximus* cv. Gatton; Tabla 1). La estructura de los tratamientos fue un factorial 2×3 , resultando de la combinación de 2 niveles de sales en el agua de bebida y 3 niveles de suplementación proteica. El contenido de sales fue 786 mg/l de sólidos totales disueltos (STD) en el agua de bebida con bajo tenor salino (TSB) o 6.473 mg/l STD en el agua de bebida con alto tenor salino (TSA; Tabla 2). El agua TSB fue obtenida de la represa del establecimiento, en cambio TSA fue elaborada artificialmente adicionando NaCl y sulfato de sodio (Na_2SO_4) hasta alcanzar la concentración objetivo: 7.000 mg/l de TSD con 3.000 mg/l de

sulfatos. Los niveles de TSD del agua TSA fueron fijados para alcanzar los umbrales a partir del cual el consumo de agua y alimento resulta limitado (NRC, 2000). Por otra parte, los niveles de HS fueron 0, 0,2 y 0,4% PV/d (base seca).

La dieta basal de heno fue ofrecida una vez al día (0800 h) al 130% del consumo voluntario, después que los novillos consumieran la totalidad de HS. También se les suministró diariamente 60 g de una mezcla mineral (33% cal, 1,47% sulfato de cobre, 0,04% yodato de calcio, 0,014% carbonato de cobalto, 6,67% óxido de magnesio, 7,20% sulfato de zinc, 0,014% selenita sódica, 3,88% sulfato de hierro, 2,67% carbonato de calcio), formulado para satisfacer las recomendaciones del NRC (2000).

Los novillos fueron asignados a cada combinación de calidad de agua y suplementación con HS durante 4 períodos de 23 d cada uno. En cada período, del d 1 al d 15 se posibilitó la adaptación de los animales a los tratamientos, del d 16 al d 20 se evaluó el consumo de agua y alimento y la digestibilidad, el d 21 se evaluaron parámetros ruminales, el d 22 se procedió al vaciado ruminal, y el d 23 a la extracción de sangre.

3.2. Muestreo y mediciones:

En cada período se colectaron muestras del forraje ofrecido y del remanente los d 16 a 20 y d 17 a 21, respectivamente, antes del suministro diario del alimento. En el intervalo comprendido entre el d 16 y el d 18 se extrajeron muestras de heces para la determinación de digestibilidad del heno de forraje mediante un marcador interno (ceniza insoluble en detergente ácido, [CIDA]; Kanani y col., 2014). Las muestras se extrajeron directamente del recto de los animales cada 6 h, avanzando 4 h por día durante el intervalo de muestreo con el objetivo de minimizar las variaciones diurnas en la excreción del marcador. Para la determinación de parámetros ruminales (amonio, AGV) en el d 21 se tomaron muestras del fluido ruminal de cada novillo a la h 0, 4, 8 y 12 post-alimentación. Inmediatamente después de obtenido el fluido ruminal se midió el pH del mismo utilizando un pH-metro portátil con electrodo combinado (Orion Research, Boston, MA). Para el análisis de amonio, una submuestra de 2 ml de fluido

ruminal de cada extracción se acidificó con 8 ml de HCl 0,1 N; mientras que para el análisis de AGV, una submuestra de 8 ml de fluido ruminal se combinó con 2 ml de ácido metafosfórico al 25% (p/v). Finalmente, las muestras de fluido ruminal se almacenaron en *freezer* para posterior análisis en laboratorio.

En el d 22 de cada período, se procedió a realizar en forma manual el vaciado total del rumen justo antes (0 h) y 4 h post alimentación para la determinación del contenido de sólidos y líquidos del rumen. El contenido total del rumen fue pesado, mezclado, y muestreado por triplicado para medir el contenido de humedad y CIDA. El resto del contenido ruminal fue colocado inmediatamente dentro del rumen de cada animal después de la obtención de las muestras.

El d 23 se extrajeron muestras de sangre de la vena yugular con tubos conteniendo heparina, aproximadamente 8 h post-alimentación. Los tubos se mantuvieron en hielo hasta la realización de los análisis correspondientes. Para la colección, los novillos fueron previamente sedados con 1 ml de xilacina (100mg/ml; Setodim; König, Bs. As., Argentina).

El consumo de forraje se calculó restando la MO remanente a la MO ofrecida diariamente, mientras que el consumo de agua se midió en forma diaria mediante la variación en altura del pelo de agua en el bebedero de cada novillo. La determinación de la digestibilidad se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Cochran y Galyean (1994), mientras que la tasa de pasaje del material sólido se calculó dividiendo la tasa al cual el CIDA fue consumido (kg/h) por la cantidad de CIDA (kg) en el rumen en cada momento de vaciado.

3.3. Procesamiento de las muestras y análisis de laboratorio:

Las muestras de forraje, remanente y de la digesta ruminal fueron secadas parcialmente en estufa de aire forzado (96 h a 55 °C), pesadas y molidas (molino Wiley No. 4, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ) a través de una malla de 1 mm. Las muestras del alimento y los remanentes fueron compuestas entre días dentro de cada calidad de agua, para cada período. A su vez, las muestras fecales se compusieron a través de los días para cada novillo y

período. La digesta ruminal fue compuesta por novillo dentro de cada momento de muestreo, y para cada período. Las muestras molidas y secadas parcialmente de alimento, remanente y heces fueron secadas por 24 h a 105 °C para determinar MS, y posteriormente incineradas por 3 h a 600 °C para la determinación de ceniza.

En las muestras de forraje ofrecido y remanentes se analizó FDN y FDA con el ANKOM-Fiber Analyzer 200 (ANKOM Technology, Fairport, NY, USA), siguiendo el procedimiento descrito por Van Soest y col. (1991) con la adición de sulfito de sodio. Las muestras de forraje ofrecido se analizaron además para determinar N total de acuerdo al procedimiento Kjeldahl (AOAC, 1990). El contenido ruminal y heces fueron analizadas para determinar FDN, FDA y CIDA, usando los procedimientos estándares descritos por Van Soest y col. (1991). Los valores de FDN y FDA reportados contienen cenizas residuales.

Para la cuantificación de amonio y AGV en el fluido ruminal, las muestras se descongelaron a temperatura ambiente y se centrifugaron a $30.000 \times g$ durante 10 min a 4 °C. Las determinaciones se realizaron sobre el sobrenadante. El amonio ruminal se determinó usando el procedimiento colorimétrico de Broderick y Kang (1980). Para la valoración de la concentración de AGV se utilizó un cromatógrafo gaseoso (HRGC-3000C; Konik Group, Barcelona, España) equipado con una columna capilar Zebron ZB-FFAP (15 m \times 0,32 mm d.i., 0,25 μ m espesor de la película; Phenomenex, Inc. Torrance, CA). La temperatura del horno se programó para mantener 100 °C durante 3 min y luego incrementar 8 °C/min, entre 100 a 230 °C. El gas portador fue N₂ a 1,2 ml/min. El divisor de flujo fue de 30:1. Por otra parte, la concentración de NUP se determinó mediante un kit de método enzimático (GT Lab, Rosario, Argentina), empleando un espectrofotómetro (Metrolab 330, Metrolab UV Vis, Bs. As., Argentina).

3.4. Análisis estadístico:

El análisis estadístico de los datos de consumo, digestibilidad, contenido ruminal, tasa de pasaje y NUP se realizó utilizando el procedimiento MIXED de SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC) según el siguiente modelo:

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

donde y_{ijkl} es la respuesta para el período i sobre el novillo j en el nivel k de suplementación y calidad de agua l , μ es la media general, p_i es el efecto aleatorio del período i , s_j es el efecto aleatorio del novillo j , r_k es el efecto fijo del nivel k de suplementación, c_l es el efecto fijo de la calidad del agua l , $(rc)_{kl}$ es el efecto fijo de la interacción entre el nivel k de suplementación con la calidad de agua l , y ε_{ijkl} es el error aleatorio. Para calcular las medias de los tratamientos se utilizó la opción LSMEANS. El pH y las concentraciones de amonio y AGV ruminales fueron analizadas usando el procedimiento MIXED de SAS, como medidas repetidas (Littell y col., 1998). En este caso el modelo para el análisis estadístico fue:

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

donde y_{ijklz} es la respuesta para el período i sobre el novillo j en el nivel k de suplementación y calidad de agua l en el tiempo z , μ es la media general, p_i es el efecto aleatorio del período i , s_j es el efecto aleatorio del novillo j , r_k es el efecto fijo del nivel k de suplementación, c_l es el efecto fijo de la calidad del agua l , t_z es el efecto fijo de tiempo, $(rc)_{kl}$ es el efecto fijo de la interacción entre el nivel k de suplementación con la calidad de agua l , $(rt)_{kz}$ es el efecto fijo de la interacción entre el nivel k de suplementación con el tiempo z , $(ct)_{lz}$ es el efecto fijo de la interacción entre la calidad de agua l con el tiempo z , $(rct)_{klz}$ es el efecto fijo de la interacción entre el nivel k de suplementación con la calidad de agua l y el tiempo z , y ε_{ijklz} es el error aleatorio. Las medias de los tratamientos se calcularon utilizando la opción LSMEANS. Se realizaron contrastes de polinomios ortogonales para particionar la suma de cuadrados de los tratamientos.

4. Resultados

4.1. Consumo de alimento y agua

La interacción HS × agua fue significativa para la mayoría de las variables de consumo evaluadas, excepto para el consumo de MO total digestible (CMOTD; $P = 0,39$) y el consumo de FDN total digestible (CFDNTD; $P = 0,32$). Cuando los novillos bebieron TSB, el consumo de MO del forraje (CMOF), de MO total (CMOT), FDN total (CFDNT) y agua (CA) parecieron estabilizarse en el nivel más alto de suplementación con HS. Por otra parte, cuando bebieron TSA la suplementación proteica elevó todas las estimaciones de consumo (Tabla 3). Aunque no hubo interacción, CMOTD aumentó linealmente ($P = 0,01$), y CFDNTD tendió a aumentar ($P = 0,09$), cuando el forraje de baja calidad estuvo suplementado con HS (Tabla 3). Es importante notar que no se observaron diferencias entre calidades de agua para CMOTD ($P = 0,45$) y CFDNTD ($P = 0,27$) en el nivel más alto de suplementación con HS. El consumo de MO total y de agua ($P < 0,01$) como así también el CFDNTD ($P < 0,05$) aumentaron linealmente en respuesta a la suplementación con HS. Mientras tanto el CMOF y CFDNT tendieron ($P = 0,06$) a aumentar con la HS. La calidad del agua afectó negativamente CA ($P < 0,01$) y CMOF ($P < 0,01$). Sin embargo, el consumo de agua no difirió entre TSB y TSA con el nivel más alto de suplementación proteica ($P = 0,58$; Tabla 3). Para la relación CA : CMO la interacción HS × calidad de agua resultó significativa ($P < 0,01$). La relación para TSA fue menor ($P < 0,05$) que para TSB, debido a la ingesta relativamente baja de los novillos bebiendo TSA en el nivel medio de suplementación con HS ($P < 0,01$).

4.2. Digestibilidad del alimento

La digestibilidad de la MO total (DMOT) y de la FDN total (DFDNT) no fueron afectadas por la interacción HS × calidad de agua ($P = 0,99$ y $P = 0,96$, respectivamente). De igual manera, la suplementación proteica y la calidad de agua no afectaron ni DMOT ($P = 0,64$ y $P = 0,21$, respectivamente) ni DFDNT ($P = 0,29$ y $P = 0,31$, respectivamente; Tabla 4).

4.3. Contenido ruminal y tasa de pasaje

La interacción HS × calidad de agua no modificó el contenido de MS ruminal ($P = 0,34$) ni la tasa de pasaje ($P = 0,38$; Tabla 4). El contenido de MS ruminal fue afectado por la calidad de agua ($P < 0,01$), con valores inferiores para TSA (Tabla 4). La tasa de pasaje se incrementó en forma lineal ($P < 0,01$) en respuesta a la suplementación proteica, aunque no fue afectada por la calidad del agua ($P = 0,98$).

4.4. Perfil de fermentación ruminal

Los tratamientos no alteraron las concentraciones totales de AGV ni las proporciones molares, a excepción de propionato y butirato (Tabla 5). El primero disminuyó ($P < 0,05$) y el segundo aumentó ($P = 0,05$) con niveles incrementales de HS. La calidad de agua TSA tendió a elevar la proporción molar de propionato ($P < 0,08$). El pH ruminal fue afectado únicamente por el tiempo de muestreo ($P < 0,01$). El pH más bajo se registró entre las 8 y 12 h post-alimentación. Se registró una interacción triple (HS × calidad de agua × tiempo) para la concentración de amonio ruminal ($P < 0,05$). La interacción se debió fundamentalmente a la mayor concentración de amonio a las 8 ($P < 0,01$) y 12 ($P < 0,05$) h post-alimentación. La concentración de amonio aumentó linealmente ($P < 0,01$) en respuesta a la suplementación proteica, mientras que tendió a ser mayor ($P = 0,09$) en TSA con respecto a TSB con 0,2% PV de HS (Figura 1).

4.5. Nitrógeno ureico en plasma

La interacción HS × calidad de agua no fue significativa para NUP ($P = 0,20$). Con la suplementación proteica NUP incrementó linealmente ($P < 0,05$; Tabla 5), mientras que TSA elevó NUP comparado con TSB ($P < 0,01$).

5. Discusión

El objetivo principal de este estudio fue investigar la posibilidad de interacción entre la suplementación proteica (niveles de HS) y la calidad del agua de bebida (TSB y TSA) en

relación a sus efectos sobre el consumo de forraje de baja calidad y de agua, como así también sobre la fermentación ruminal y la digestibilidad del alimento. En este sentido, se observaron interacciones significativas para CMOF, CMOT y CFDNT, indicando que la calidad del agua afecta en forma diferencial la respuesta a la suplementación proteica. Adicionalmente, la suplementación proteica y la calidad del agua también ejercieron un efecto independiente sobre el consumo de alimento y agua, como se observó en trabajos anteriores. En general, el suministro de proteína suplementaria al ganado consumiendo henos de forrajes de calidad media o baja mejora su utilización (Köster y col., 1996; Bandyk y col., 2001; Wickersham y col., 2004). Por otro lado, altas concentraciones de sales en el agua de bebida (especialmente sulfatos) reduce el consumo de alimento y agua en rumiantes (Weeth y Hunter, 1971; Harper y col., 1997; Loneragan y col., 2001). En el presente estudio se observó una respuesta similar en el consumo de forraje, independiente a la calidad del agua, cuando la suplementación con HS aumentó de 0 a 0,2% PV. Con mayores niveles de suplementación (0,4% PV), el consumo de forraje pareció estabilizarse en TSB, mientras que se siguió aumentando al mismo ritmo en los novillos TSA. De hecho, el consumo de forraje se incrementó casi un 40% cuando se suplementó con el nivel más alto de HS en los novillos TSA. La estabilización observada en TSB fue una respuesta esperada, porque los niveles de suplementación proteica fueron seleccionados por encima de los requerimientos de proteína degradable en rumen (PDR) para maximizar la utilización del forraje. Mathis y col. (1999) observaron una estabilización del CMOF cuando HS fue suministrada al 0,16% PV en vacunos para carne consumiendo un forraje de baja calidad.

Se ha observado que la suplementación proteica estimula el consumo de forraje de baja calidad básicamente por incrementar la digestión y la tasa de pasaje. Wickersham y col. (2004) reportaron incrementos lineales en DMOT, DFDNT y la tasa de pasaje cuando se proporcionó PDR a novillos consumiendo henos de forrajes de baja calidad. En el presente estudio, el aumento en el consumo de forraje en respuesta a la suplementación con HS estaría explicado por un incremento en la tasa de pasaje, debido a que no hubo diferencias en las

digestibilidades o en los contenidos ruminales. La falta de efecto sobre DMOT y DFDNT podría atribuirse a una similitud entre el aumento en la tasa de pasaje y el incremento en la tasa de digestión, a la calidad del forraje base utilizado, o a una combinación de ambos.

La respuesta de la digestión de la fibra a la suplementación proteica es algo variable en la literatura. Mathis y col. (2000) condujeron 3 experimentos en los cuales evaluaron los efectos de la suplementación con PDR sobre el consumo de forrajes de media y baja calidad en novillos para carne. Los autores observaron efecto de la suplementación proteica sobre CMOF, CMOT y DMOT cuando la proteína del forraje fue de 4,3%, mientras que cuando la proteína del forraje fue mayor (i.e., 5,9 o 8,1%) no observaron ninguna respuesta a la suplementación con PDR. Un rango entre 6 a 8% PB en el forraje base es considerado como el umbral para obtener respuesta a la suplementación proteica (DelCurto y col., 2000). En el presente estudio, los valores de PB (7,0%) y de FDN (81,8%) del forraje fueron mayores a los de forrajes utilizados en otros experimentos (Köster y col., 1996; Mathis y col., 1999; Bandyk y col., 2001). Por lo tanto, la disponibilidad de N ruminal no parece haber limitado la digestión de la fibra en el presente estudio. En experimentos con forrajes de baja calidad, Köster y col. (1996), Mathis y col. (1999) y Bandyk y col. (2001) reportaron valores de amonio ruminal inferiores a 0,7 mM cuando no se suplementó con proteína, mientras que en el presente estudio se registró un valor de 2,55 mM en el tratamiento con 0% de HS.

El incremento en la tasa de pasaje fue similar a lo reportado por otros investigadores (Guthrie y Wagner, 1988; Bodine y col., 2000; Wickersham y col., 2004). El incremento marcado en la tasa de pasaje en respuesta a los niveles incrementales de HS, explicaría al menos en parte el concurrente incremento en el consumo de forraje. Egan y Moir (1965) argumentaron que la suplementación proteica estimula la tasa de pasaje y el consumo por incrementar la motilidad ruminal. Por otra parte, la tasa de pasaje no fue afectada por la calidad del agua, por lo que no parece explicar las interacciones entre CMOF, CMOT y CFDNT con la calidad el agua. También es importante apreciar que aunque no se observó interacción

entre CMOTD o CFDNTD con la calidad del agua, no se percibieron diferencias entre TSB y TSA para CMOTD y CFDNTD en el nivel más alto de suplementación con HS. Los aumentos proporcionalmente más grandes en CMOTD comparado con CMOT observados en este estudio parece haber sido debido al suministro de HS per se, más que a un efecto combinado con DMOT. La adición de HS no mejoró el CFDNTD en TSB pero si en TSA (aproximadamente un 47% comparado con el control).

A pesar de las consideraciones realizadas, el potencial para estimular el consumo de MO vía PDR tiene límites (Mathis y col., 1999; Moore y col., 1999). Köster y col. (1996) observaron que CMOF aumentó en forma cuadrática con incrementos en la proteína suplementaria en forrajes de baja calidad. Ellos concluyeron que CMOTD se maximizó cuando la relación PDR : CMOTD fue de alrededor del 11%, aunque los requerimientos de PDR varían con características inherentes al forraje. Así, es generalmente aceptado que la PDR debe estar entre un rango de 7 a 13% de DMOT (Hollingsworth-Jenkins y col., 1996; Cochran y col., 1998) para obtener la máxima utilización del forraje. En el presente estudio, el contenido más bajo de PDR fue alrededor de 6% del CMOTD. Esto sugiere que el agua salobre podría alterar los requerimientos de PDR para maximizar la utilización del forraje. Sin embargo, es bastante poco probable que estos niveles de N disponible en rumen no hayan sido suficientes para satisfacer las necesidades de los microorganismos. La concentración de amonio ruminal y la relación PDR : CMOTD estuvieron por encima a los valores propuestos por otros autores (Satter y Slyter, 1974; Hollingsworth-Jenkins y col., 1996 ; Cochran y col., 1998). Para este estudio se calculó una relación PDR : CMOTD de 13 a 18% para los niveles 0,2 y 0,4% de suplementación con HS, respectivamente.

Un factor no tenido en cuenta comúnmente en los trabajos realizados de suplementación proteica en forrajes de baja calidad, es el consumo de agua. Debido a la estrecha relación entre el consumo de agua y el de alimento, es razonable esperar una disminución en CMS ante una restricción en el consumo de agua (Silanikove, 1992). Algunas investigaciones

indican que restricciones superiores al 30% en el consumo de agua disminuyen el CMS voluntario (Weeth y col., 1968; Utey y col., 1970; Burgos y col., 2001). Concentraciones elevadas de sulfatos en el agua de bebida reducen la ingesta de agua de bebida y, consecuentemente, el consumo de alimento (Weeth y Hunter, 1971; Digesti y Weeth, 1976; Grout y col., 2006). Patterson y col. (2003) llevaron a cabo un estudio en el cual el consumo de alimento y agua de vacunos en recría disminuyeron cuadrática y linealmente, respectivamente, en respuesta a las elevadas concentraciones de STD y sulfatos en el agua de bebida. Los autores concluyeron que aguas con 7.000 mg/l STD y 4.600 mg/l sulfatos afecta la salud y desempeño animal.

En concordancia con Weeth y Hunter (1971) y Grout y col. (2006), en el presente estudio se observó una reducción del 40 y 28% en el consumo de agua y CMOT, respectivamente, en TSA en relación a TSB cuando no se suplementó con HS. A pesar de esto, en el nivel más alto de suplementación proteica utilizado, no se observaron diferencias en el consumo de agua entre los novillos bebiendo TSA o TSB. Se ha reportado que aumentos en el contenido proteico de la dieta estimulan la ingesta de agua (Holter y Urban, 1992; NRC, 2000). Según Godwin y Williams (1984), el consumo de agua total muestra un incremento curvilíneo con aumentos en el consumo de N. Estos autores sugirieron que la producción de orina se elevó en respuesta a incrementos en el consumo de N, lo cual podría deberse al efecto diurético del consumo de proteína (Dinn y col., 1998) a través de un incremento en la tasa de filtración glomerular (Eriksson y Valtonen, 1982; Godwin y Williams, 1984). Los resultados del presente estudio sugieren que niveles elevados de suplementación proteica pueden, en cierto grado, revertir los efectos de elevados STD y sulfatos sobre la ingesta de agua. Como la relación CA:CMOT permaneció constante, incrementos en el consumo de agua derivaron en incrementos en CMOT. Estos resultados apoyan los estudios de Wilson y Hindley (1970) y Wilson y Dudzinski (1973), en los que se menciona que una reducción en CMS es atribuible a un bajo consumo de agua salada en vez de a una reducida tolerancia a sales.

Wilson y Dudzinski (1973) condujeron un estudio en el cual evaluaron la influencia de la concentración (1,5 y 2,0% NaCl) y el volumen de agua salada ingerida sobre el consumo de alimento y agua en ovejas. El agua salada redujo el consumo de alimento, excepto cuando los animales incrementaron el consumo de la misma. En este estudio, el aumento en la ingesta de agua con elevados tenores salinos y de sulfatos no alteró la salud de los animales. No obstante, aguas con concentraciones altas de sulfatos tienen el potencial de generar poliencefalomalacia (PEM; McAllister y col., 1997), debido a la producción de un gas tóxico (sulfuro de hidrógeno [H₂S]) proveniente de la reducción de los sulfatos por las bacterias ruminales. A pesar de lo comentado, no se observó ningún síntoma característico de PEM a lo largo del experimento. Una posible explicación es que la producción de H₂S no fue lo suficientemente alta como para inducir PEM. La producción de este gas en el rumen está favorecida cuando los animales consumen dietas ricas en carbohidratos no fibrosos y pobres en fibra (Gould y col., 1997; Gould, 2000), y el pH ruminal es generalmente bajo. En el presente experimento se registraron pH > 6,60, lo que pudo haber inhibido la formación de H₂S a partir de sulfuro disminuyendo la acumulación del mismo en el rumen (Richter, 2011).

La falta de respuesta en la concentración de AGV totales a los tratamientos, pudo haberse debido al hecho que la DMOT no fue afectada por los niveles incrementales de HS y la calidad del agua (McCollum y Galyean, 1985; DelCurto y col., 1990).

Los niveles de amonio ruminal y NUP aumentaron linealmente con la suplementación, lo que está en concordancia con la literatura (Bodine y col., 2000; Bandyk y col., 2001; Muscher y col., 2010). Sin embargo, algunas consideraciones deben ser tenidas en cuenta con respecto a los efectos de la calidad del agua. A pesar de que la concentración de amonio ruminal no fue alterada por la calidad del agua, el NUP incrementó con el consumo de agua salada. Cuando el animal requiere ahorrar agua, la reabsorción de urea en los riñones aumenta. En concordancia, cuando el consumo de agua está restringido, se observa una reducción en la cantidad de urea perdida a través de la orina (Leng y Szanyiová, 1987; Van der Walt y col., 1999).

Trabajos previos destacaron la importancia del riñón como un mecanismo para conservar N (Leng y Szanyiová, 1987; Faix y col., 1988; Marini y col., 2004). En un experimento reciente, Starke y col. (2012) observaron que la reabsorción de N en cabras aumentó en respuesta a una dieta deficiente en proteína debido a un incremento en la expresión de transportadores especializados de urea localizados en el riñón. En este estudio, la mayor concentración de NUP en TSA puede haber sido debido al menor consumo de agua, resultando en una menor eliminación de urea por la orina. En concordancia, cuando el consumo de agua no se diferenció entre TSB y TSA en el nivel más alto de suplementación con HS, el NUP fue similar entre TSB y TSA.

La concentración de NUP es un importante factor en determinar la cantidad de urea reciclada al rumen (NRC, 2000; Wickersham y col., 2008). Con concentraciones de amonio ruminal menores a 4 mM, el NUP está positivamente correlacionado con la cantidad de N ureico reciclado al rumen (Lapierre y Lobley, 2001). Trabajos previos han demostrado la importancia del reciclado de N cuando los rumiantes consumen forrajes deficientes en N (Wickersham y col., 2008, 2009). Bandyk y col. (2001) condujeron un experimento en el que evaluaron los efectos de la administración ruminal vs. post-ruminal de caseína sobre la utilización de forrajes de baja calidad en novillos. En el trabajo mencionado los autores atribuyeron una mejora en la utilización del forraje debido al reciclaje de N ruminal a partir de la proteína infundida post-ruminalmente. En el presente estudio, aunque el reciclaje de N no fue evaluado, la mayor concentración de amonio ruminal observado en TSA sobre TSB cuando la suplementación con HS fue al 0,2% PV puede haber sido como resultado de un mayor reciclaje de N al rumen. Debido a la importancia del reciclaje de la urea en proporcionar N disponible en rumen en animales alimentados con forrajes de baja calidad, y a los efectos potenciales positivos del agua salada sobre la retención de N por el riñón, este tema requiere mayor investigación.

6. Conclusión

Los resultados obtenidos mostraron que niveles altos de suplementación con HS (0,4% PV) pueden contrarrestar los efectos detrimentales del agua salada sobre el consumo de forraje de baja calidad en novillos, demostrando la existencia de una interacción entre la calidad del agua y la proteína suplementaria para el consumo de forraje. Sin embargo, tal interacción no fue evidente para el consumo de MO digestible. Los valores de NUP observados sugieren que los niveles elevados de sal en el agua disminuyen la excreción urinaria de N, incrementando el reciclaje al rumen. A pesar de lo comentado, el mecanismo por el cual la suplementación proteica podría aliviar los efectos negativos del agua salada permanece poco claro y debería ser objeto de futuras investigaciones.

7. Bibliografía

- AOAC (Association of Analytical Chemists): 1990. Official methods of analysis, Fifteenth Ed. AOAC, Arlington, VA, USA.
- 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.
- Basán Nickisch, M. 2007. Manejo de los recursos hídricos en zonas áridas y semiáridas para áreas de secano. Ed. INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Bodine, T. N., H. T. Purvis, C. J. Ackerman, C. L. Goad. 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.
- Broderick, G. A., y J. H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *J. Dairy Sci.* 63:64–75.
- Burgos, M. S., M. Senn, F. Sutter, M. Kreuzer, W. Langhans. 2001. Effect of water restriction on feeding and metabolism in dairy cows. *Am. J. Phy. Reg. Int. Comp Physiol.* 280:R418-R427.
- Caton, J. S., A. S. Freeman, M. L. Galyean. 1988. Influence of protein supplementation on forage intake, in situ forage disappearance, ruminal fermentation and digesta passage rates in steers grazing dormant blue grama rangeland. *J. Anim. Sci.* 66:2262-2271.
- Cirio, A., y R. Boivin. 1990. Extraction renale du para-aminohippurate et de l'inuline chez le mouton carence en proteines. *Ann. Rech. Vet.* 21:167-170.

- Cochran, R. C., y M. L. Galyean. 1994. Measurements of in vivo forage digestion by ruminants. In: Fahey, Jr., G.C., Collins, M.C., Mertens, D.R., Moser, L.E. (Eds.), Forage Quality, Evaluation, and Utilization. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, p. 613–643.
- Cochran, R. C., H. H. Köster, K. C. Olson, J. S. Heldt, C. P. Mathis, B. C. Woods. 1998. Supplemental protein sources for grazing cattle. In: 9th Florida Ruminant Nutrition Symposium, Gainesville. p. 123-136.
- DelCurto, T., R. C. Cochran, L. R. Corah, A. A. Beharka, E. S. Vanzant, D. E. Johnson. 1990. Supplementation of dormant tallgrass-prairie forage: II. Performance and forage utilization characteristics in grazing beef cattle receiving supplements of different protein concentrations. *J. Anim. Sci.* 68:532-542.
- DelCurto, T., B. W. Hess, J. E. Huston, K. C. Olson. 2000. Optimum supplementation strategies for beef cattle consuming low-quality roughage in the western of United States. *J. Anim. Sci.* 77:1-16.
- Digesti, R. D., y H. J. Weeth. 1976. A defensible maximum for inorganic sulfate in drinking water of cattle. *J. Anim. Sci.* 42:1498-1502.
- Dinn, N. E., J. A. Shelford, L. J. Fisher. 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. Dairy Sci.* 81:229-237.
- Egan, A. R., y R. J. Moir. 1965. Nutritional status and intake regulation in sheep. I. Effects of duodenally infused single doses of casein, urea, and propionate upon voluntary intake of a low-protein roughage by sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 16, 437-449.
- Eriksson, L., y M. Valtonen. 1982. Renal urea handling in goats fed high and low protein diets. *J. Dairy Sci.* 65:385-389.
- Faix, S., L. Leng, M. Szanyiova, K. Boda. 1988. Effect of dietary energy intake on tubular reabsorption of urea in sheep. *Phy. Bohemoslov.* 37:493-501.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2007. Water quality for livestock and poultry. In: Water quality for agriculture. <http://www.fao.org/docrep/003/t0234e/T0234E07.pdf> (Acceso 29 Septiembre 2011).
- Godwin, I. R., y V. J. Williams. 1984. Renal control of plasma urea level in sheep: the diuretic effect of urea, potassium and sodium chloride. *Exp. Physiol.* 69:49-59.
- Gould, D. H., B. A. Cummings, D. W. Hamar. 1997. In vivo indicators of pathologic ruminal sulfide production in steers with diet-induced polioencephalomalacia. *J. Vet. Diag. Invest.* 9:72-76.
- Gould, D. H. 2000. Update on sulfur-related polioencephalomalacia. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 16:481-495.

- Grout, A. S., D. M. Veira, D. M. Weary, M. A. G. von Keyserlingk, D. Fraser. 2006. Differential effects of sodium and magnesium sulfate on water consumption by beef cattle. *J. Anim. Sci.* 84:1252-1258.
- Guthrie, M. J., y D. G. Wagner. 1988. Influence of protein or grain supplementation and increasing levels of soybean meal on intake, utilization and passage rate of prairie hay in beef steers and heifers. *J. Anim. Sci.* 66:1529-1537.
- Harper, G. S., T. J. King, B. D. Hill, C. M. L. Harper, R. A. Hunter. 1997. Effect of coal mine pit water on the productivity of cattle II. Effect of increasing concentrations of pit water on feed intake and health. *Aust. J. Agric. Res.* 48:155-164.
- Hollingsworth-Jenkins, K. J., T. J. Klopfenstein, D. C. Adams, J. B. Lamb. 1996. Ruminally degradable protein requirement of gestating beef cows grazing native winter sandhills range. *J. Anim. Sci.* 74:1343-1348.
- Holter, J. B., y W. E. Urban. 1992. Water partitioning and intake prediction in dry and lactating holstein cows. *J. Dairy Sci.* 75:1472-1479.
- INTA, 2013. Guía para cuidado y uso de animales de experimentación. <http://www.inta.gov.ar/documentos/manuales-sobre-cuidado-y-supervision-y-uso-de-animales.pdf> (Acceso 19 de Febrero 2013).
- Isozaki, T., A. G. Gillin, C. E. Swanson, J. M. Sands. 1994. Protein restriction sequentially induces new urea transport processes in rat initial IMCD. *Am. J. Physiol.* 266:F756-F761.
- Kanani, J., D. Philipp, K. P. Coffey, E. B. Kegley, C. P. West, S. Gadberry, J. Jennings, A. N. Young, R. T. Rhein. 2014. Comparison of acid-detergent lignin, alkaline-peroxide lignin, and acid-detergent insoluble ash as internal markers for predicting fecal output and digestibility by cattle offered bermudagrass hays of varying nutrient composition. *J. Anim. Sci. and Biotech.* 5:1-8
- Köster, H. H., R. C. Cochran, E. C. Titgemeyer, E. S. Vanzant, I. Abdelgadir, G. St-Jean. 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.
- Lapierre, H., y G. E. Lobley. 2001. Nitrogen recycling in the ruminant: a review. *J. Dairy Sci.* 84:E223-E236.
- Leng, L., M. Szanyiova, K. Boda. 1985. The renal response of sheep to a low dietary nitrogen intake. *Physiol. Bohemoslov.* 34:147-154.
- Leng, L., y M. Szanyiova. 1987. Renal retention of urea in sheep. *Vet. Med.* 32:201-208.
- Littell, R. C., P. R. Henry, C. B. Ammerman. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 76: 1216-1231.

- Loneragan, G. H., J. J. Wagner, D. H. Gould, F. B. Garry, M. A. Thoren. 2001. Effects of water sulfate concentration on performance, water intake, and carcass characteristics of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 79:2941-2948.
- McAllister, M. M., D. H. Gould, M. F. Raisbeck, B. A. Cummings, G.H. Loneragan. 1997. Evaluation of ruminal sulfide concentrations and seasonal outbreaks of polioencephalomalacia in beef cattle in a feedlot. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 211:1275-1284.
- Marini, J. C., J. D. Klein, J. M. Sands, M. E. Van Amburgh. 2004. Effect of nitrogen intake on nitrogen recycling and urea transporter abundance in lambs. *J. Anim. Sci.* 82:1157-1164.
- Mathis, C. P., R. C. Cochran, G. L. Stokka, J. S. Heldt, B. C. Woods, K. C. Olson. 1999. Impacts of increasing amounts of supplemental soybean meal on intake and digestion by beef steers and performance by beef cows consuming low-quality tallgrass-prairie forage. *J. Anim. Sci.* 77:3156-3162.
- Mathis, C. P., R. C. Cochran, J. S. Heldt, B. C. Woods, I. E. Abdelgadir, K. C. Olson, E. C. Titgemeyer, E. S. Vanzant. 2000. Effects of supplemental degradable intake protein on utilization of medium to low-quality forages. *J. Anim. Sci.* 78:224-232.
- McCollum, F. T., y M. L. Galyean. 1985. Influence of cottonseed meal supplementation on voluntary intake, rumen fermentation and rate of passage of prairie hay in beef steers. *J. Anim. Sci.* 60:570-577.
- Meintjes, R. A., y H. Engelrecht. 2004. Changes in the renal handling of urea in sheep on a low protein diet exposed to saline drinking water. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 71:165-170.
- Moore, J. E., M. H. Brant, W. E. Kunkle, D. I. Hopkins. 1999. Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility, and animal performance. *J. Anim. Sci.* 77:122-135.
- Muscher, A. S., B. Schröder, G. Breves, K. Huber. 2010. Dietary nitrogen reduction enhances urea transport across goat rumen epithelium. *J. Anim. Sci.* 88:3390-3398.
- NRC. 2000. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 7th Rev. Ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Patterson, H. H., P. S. Johnson, W. B. Epperson, R. Haigh. 2003. Effect of total dissolved solids and sulfates in drinking water for growing steers. *Proc. West. Sec. Amer. Soc. Anim. Sci.* 54:378-380.
- 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, Iowa.
- Satter, L. D., y L. L. Slyter. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *Br. J. Nutr.* 32:199-208.

- Silanikove, N. 1992. Effects of water scarcity and hot environment on appetite and digestion in ruminants: a review. *Livest. Prod. Sci.* 30:175-194.
- Starke, S., A. S. Muscher, N. Hirschhausen, E. Pfeffer, G. Breves, K. Huber. 2012. Expression of urea transporters is affected by dietary nitrogen restriction in goat kidney. *J. Anim. Sci.* 90:3889-3897.
- Utley, P. R., N. W. Bradley, J. A. Boling. 1970. Effect of restricted water intake on feed intake, nutrient digestibility and nitrogen metabolism in steers. *J. Anim. Sci.* 31-130:135.
- Van der Walt, J. G., E. A. Boomker, A. Meintjes. 1999. Effect of water intake on the nitrogen balance of sheep fed a low or a medium protein diet. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 29:105-119.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, B. A. Lewis. 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., A. L. Lesperance, V. R. Bohman. 1968. Intermittent saline watering of growing beef heifers. *J. Anim. Sci.* 27:739-744.
- Weeth, H. J., y J. E. Hunter. 1971. Drinking of sulfate-water by cattle. *J. Anim. Sci.* 32:277-281.
- Wickersham, T. A., R. C. Cochran, E. C. Titgemeyer, C. G. Farmer, E. A. Klevesahl, J. I. Arroquy, D. E. Johnson, D. P. Gnad. 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. Technol.* 115:19-36.
- Wickersham, T. A., E. C. Titgemeyer, R. C. Cochran, E. E. Wickersham, D. P. Gnad. 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., E. C. Titgemeyer, R. C. Cochran, E. E. Wickersham. 2009. Effect of undegradable intake protein supplementation on urea kinetics and microbial use of recycled urea in steers consuming low-quality forage. *Brit. J. Nutr.* 101:225-232.
- Wilson, A. D., y M. L. Dudzinski. 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.* 24:245-256.
- Wilson, A. D., y N. L. Hindley. 1970. Variations in the performance of sheep when introduced to saline drinking water. *Aust. Fld. Stn. Rec. Div. Plant. Znd.* 9:45-53.

Tabla 1. Composición química del heno y de la harina de soja.

Item	Heno	Harina de soja
	% MS	
Materia Orgánica	87,9	92,7
Proteína Bruta	7,0	45,7
Fibra Detergente Neutro	81,8	28,4
Fibra Detergente Ácido	54,0	11,8
Ceniza Insoluble en Detergente Ácido	4,9	0,4

Tabla 2. Sólidos totales disueltos y contenido mineral en el agua de bebida.

Item	TSB ¹	TSA
	mg/l	
Sólidos totales disueltos	786	6.473
Calcio	51	144
Magnesio	9	22
Sodio	196	2.026
Sulfatos	240	2.890
Carbonatos	235	244
Cloruros	153	1.512

¹ TSB = agua de bajo tenor salino, TSA = agua de alto tenor salino.

Tabla 3. Efectos de la suplementación con harina de soja (HS; 0, 0,2, 0,4 % PV) y la calidad del agua de bebida sobre el consumo de MO del forraje (CMOF), consumo de MO total (CMOT), consumo de fibra detergente neutro total (CFDNT), consumo de MO total digestible (CMOTD), consumo de fibra detergente neutro total digestible (CFDNTD), consumo de agua (CA) y la relación CA : CMOT, en novillos alimentados con forraje de baja calidad.

Items	Calidad del agua ¹						EEM	P-valor			
	TSB			TSA				Lineal	Cuadrático	Agua	HS × Agua
	HS (% PV/d)			HS (% PV/d)							
0	0,2	0,4	0	0,2	0,4						
CMOF, g/kg PV ^{0,75}	46,0	55,7	55,5	33,0	40,9	48,1	4,07	0,06	0,52	<0,01	0,02
CMOT, g/kg PV ^{0,75}	46,0	63,4	71,1	33,0	48,6	63,7	3,96	<0,01	0,51	<0,01	0,02
CFDNT, g/kg PV ^{0,75}	38,1	45,8	45,9	27,6	33,9	39,7	3,22	0,06	0,53	<0,01	0,03
CMOTD, g/kg PV ^{0,75}	28,5	36,2	43,1	21,1	29,5	40,9	4,50	0,01	0,85	<0,01	0,39
CFDNTD, g/kg PV ^{0,75}	27,4	29,2	31,6	19,7	23,3	28,9	3,99	0,09	0,79	<0,01	0,32
CA, g/kg PV ^{0,75}	250,0	378,5	341,5	156,0	194,7	357,0	26,60	<0,01	0,54	<0,01	<0,01
CA : CMOT, g/g	5,6	6,0	4,8	4,7	4,0	5,6	0,48	0,93	0,66	<0,05	<0,01

¹ TSB = agua de bajo tenor salino, TSA = agua de alto tenor salino.

Tabla 4. Efectos de la suplementación con harina de soja (HS; 0, 0,2, 0,4 % PV) y la calidad del agua sobre la digestibilidad de la MO total (DMOT), digestibilidad de la fibra detergente neutro total (DFDNT), contenido ruminal y tasa de pasaje, en novillos alimentados con forraje de baja calidad.

Items	Calidad del agua ¹						P-valor				
	TSB			TSA			EEM	Lineal	Cuadrático	Agua	HS × Agua
	HS (% PV/d)			HS (% PV/d)							
	0	0,2	0,4	0	0,2	0,4					
DMOT, %	60,7	56,3	60,4	64,6	60,6	64,3	5,46	0,95	0,39	0,21	0,99
DFDNT, %	63,0	52,9	55,9	65,5	57,6	58,7	5,65	0,25	0,28	0,31	0,96
Contenido ruminal, g/kg PV ^{0,75}	105,9	101,7	92,3	99,1	84,0	85,1	7,68	0,24	0,76	<0,01	0,34
Tasa de pasaje, %/h	1,90	2,40	3,40	1,22	2,85	3,60	0,53	<0,01	0,79	0,98	0,38

¹ TSB = agua de bajo tenor salino, TSA = agua de alto tenor salino.

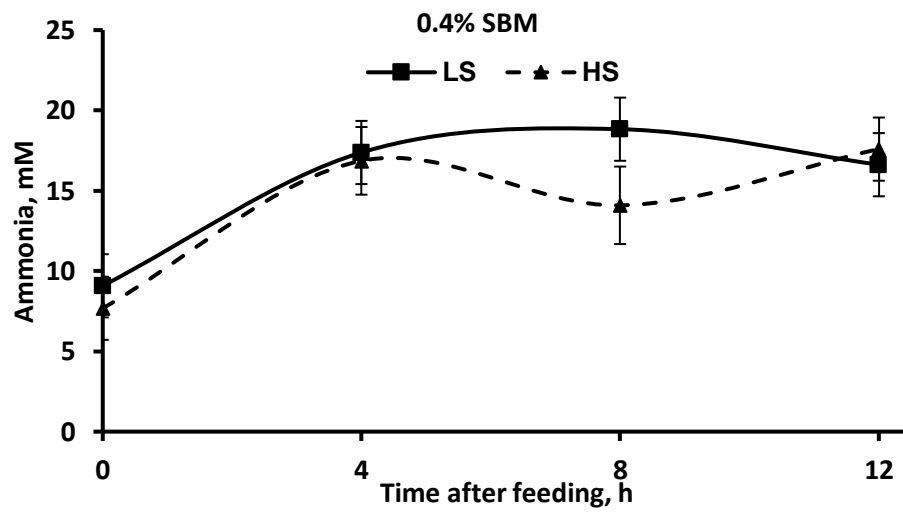
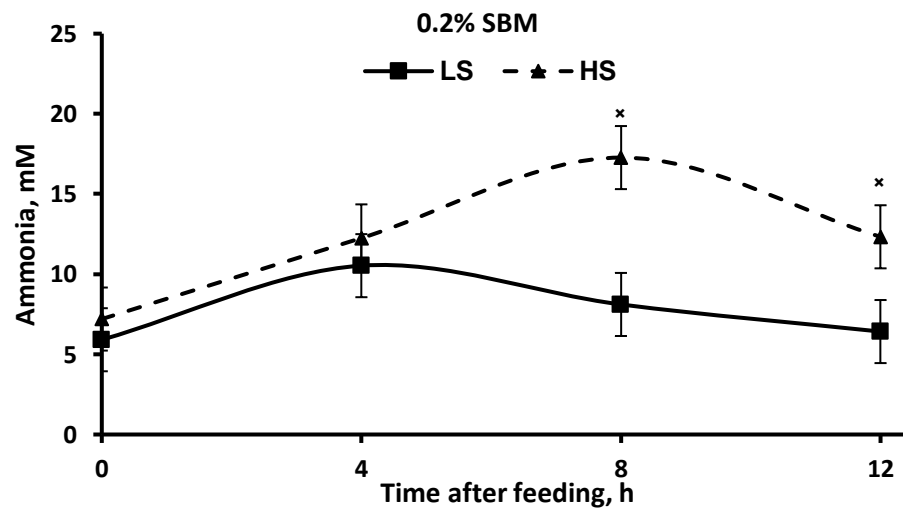
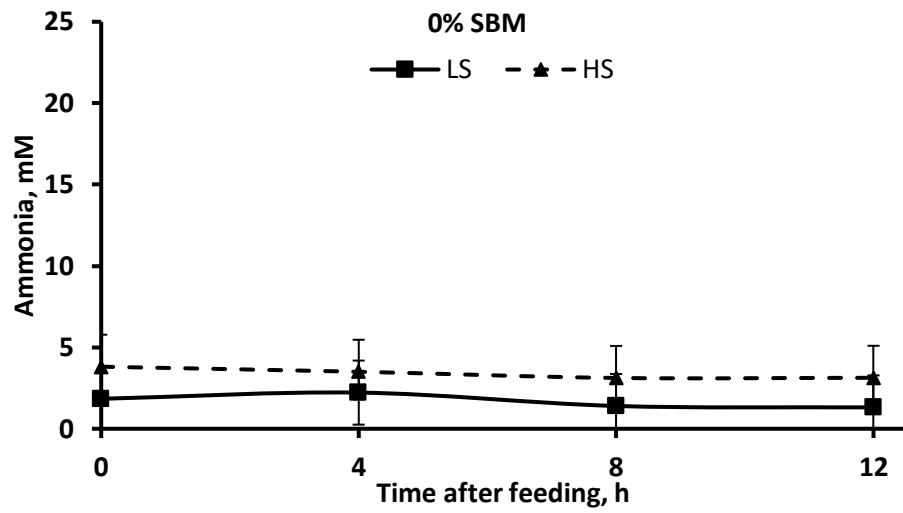
Tabla 5. Efectos de la suplementación con harina de soja (HS; 0, 0,2, 0,4 % PV) y la calidad del agua sobre el pH ruminal, amonio ruminal, nitrógeno ureico plasmático (NUP), concentración y proporciones de AGV ruminales, en novillos alimentados con forraje de baja calidad.

Items	Calidad del Agua ¹						EEM	P-valor			
	TSB			TSA				Lineal	Cuadrático	Agua	HS × Agua
	HS (% PV/d)			HS (% PV/d)							
0	0,2	0,4	0	0,2	0,4	0,09	0,16	0,70	0,32	0,30	
pH	6,92	6,67	6,57	6,73	6,67	6,63	0,09	0,16	0,70	0,32	0,30
Amonio N, mM	1,70	7,75	15,48	3,39	12,28	14,03	1,66	<0,01	0,34	0,25	0,23
NUP, mg/dl	20,5	28,5	38,5	31,0	34,3	41,5	5,2	0,02	0,64	<0,01	0,20
AGV total, mM	99,7	116,5	112,6	105,5	100,1	110,1	9,4	0,43	0,89	0,60	0,54
Porcentaje de AGV ruminal, mol/100 mol											
ACE	81,5	81,9	81,2	81,0	81,5	81,4	0,4	0,93	0,16	0,35	0,47
PROP	13,9	13,4	13,4	14,5	13,6	13,8	0,4	0,03	0,06	0,08	0,78
BUT	3,40	3,64	3,99	3,43	3,65	3,57	0,12	0,05	0,67	0,32	0,29
ISOBUT	0,43	0,42	0,55	0,43	0,48	0,47	0,06	0,12	0,58	0,81	0,34
VAL	0,24	0,21	0,28	0,18	0,27	0,22	0,03	0,25	0,81	0,46	0,24
ISOVAL	0,44	0,48	0,57	0,40	0,56	0,54	0,07	0,12	0,61	0,94	0,68

¹ TSB = agua de bajo tenor salino, TSA = agua de alto tenor salino.

² AGV: ACE = acetato, PROP = propionato, BUT = butirato, ISOBUT = isobutirato, VAL = valerato, ISOVAL = isovalerato.

Figura 1. Efecto de la calidad del agua sobre la concentración de amonio ruminal después del suministro de 3 niveles de suplementación con harina de soja (HS): 0, 0,2, y 0,4% PV/d. Efectos: HS Lineal, $P < 0,01$; HS Cuadrático, $P = 0,34$; Agua, $P = 0,25$; HS \times Agua, $P = 0,23$; HS \times Agua \times Tiempo, $P < 0,05$. “x” indica diferencias significativas ($P < 0,05$) entre agua de bajo (TSB) y alto (TSA) tenor salino, para cada tiempo de muestreo dentro para cada nivel de suplementación. Las barras de error representan el EEM.



CAPÍTULO IV: La ingesta de agua con elevadas concentraciones de sulfatos determina el consumo y la respuesta metabólica en corderos consumiendo forraje de baja calidad

1. Resumen

El objetivo fue evaluar la interacción entre suplementación proteica y aguas con elevada concentración de sulfatos sobre el consumo y respuesta metabólica de corderos consumiendo heno de forraje de baja calidad (*Megathyrus maximus*; 6,4% PB, 79,5% FDN). Se utilizaron 20 corderos Hampshire (31 ± 4 kg PV) alojados en jaulas metabólicas individuales, en un ensayo de 10 tratamientos por 2 períodos ($n = 4$). La estructura de los tratamientos fue un factorial 2×5 : 2 calidades de agua (nivel de sulfato bajo [SB] y nivel de sulfato alto [SA]; 442 y 8.358 mg/l sólidos totales disueltos [STD], respectivamente) y 5 niveles de harina de soja (HS; 0%, 0,25%, 0,50%, 0,75%, y 1,00% PV/d). Luego de 15 d de adaptación a los tratamientos, los períodos consistieron de 5 d (d 16 a 20) para la determinación del consumo de forraje y de agua, balance de nitrógeno (N) y digestibilidad del alimento, y 1 d (d 21) para muestreo de sangre y determinación de la concentración ruminal de sulfuro de hidrógeno (H_2S). La interacción suplementación HS \times calidad de agua fue significativa para el consumo de MO del forraje (CMOF; $P = 0,04$) y consumo de MO total (CMOT; $P = 0,04$), mientras una tendencia se observó para el consumo de MO total digestible (CMOTD; $P = 0,07$). Los valores de consumo de los corderos SB fueron superiores a los SA ($P < 0,05$) en el primer y segundo nivel de suplementación con HS, únicamente. El consumo de agua aumentó linealmente ($P < 0,01$) con la suplementación proteica, pero no fue afectado por la calidad del agua ($P = 0,39$). La digestibilidad de la MO total (DMOT) fue alterada por los tratamientos, resultando mayor ($P < 0,01$) en SA que en SB. El N ureico plasmático (NUP) se elevó de manera lineal en respuesta a HS ($P < 0,01$), aunque no fue modificado por la calidad del agua ($P = 0,01$). El balance de N no se vio afectado por la interacción HS \times agua ($P > 0,12$), excepto para la utilización del N (N retenido / N consumido; $P < 0,01$) que incrementó en mayor medida con 0,25% de suplementación con HS. Independientemente de la calidad del agua, el

consumo de N ($P > 0,01$), el contenido de N en orina ($P > 0,01$) y el balance de N ($P > 0,01$) aumentaron linealmente en respuesta a la suplementación con HS. La calidad del agua afectó negativamente el consumo y el balance de N, aunque en el nivel más alto de suplementación no se observaron diferencias entre los corderos SB y SA ($P = 0,85$). No se evidenciaron cambios debido a la calidad del agua en la reabsorción de urea por los riñones ($P = 0,63$) ni en la tasa de filtración glomerular (TFG; $P = 0,30$), aunque la función renal fue modificada por los niveles incrementales de HS ($P < 0,01$). La interacción HS \times agua afectó significativamente la concentración ruminal de H_2S ($P < 0,01$), debido principalmente a una mayor concentración a partir del segundo nivel de suplementación proteica (0,25% PV) en SA con respecto a los corderos SB. En conclusión, los resultados obtenidos confirmaron la existencia de interacción entre la suplementación proteica y agua de bebida con concentración elevada de sulfatos, lo cual alteró el consumo y las respuestas metabólicas de corderos alimentados con un forraje de baja calidad.

Palabras claves: corderos, forraje de baja calidad, balance nitrógeno, sulfato, suplementación, agua.

2. Introducción

Los forrajes de baja calidad constituyen un recurso importante para sostener la producción de los rumiantes en distintas partes del mundo, por lo que se ha destinado mucho esfuerzo para desarrollar estrategias de suplementación que optimicen su utilización (Cochran y col., 1998; Salisbury y col., 2004; Atkinson y col., 2010). Es conocido que la suplementación proteica mejora el consumo y la retención de nitrógeno (N) en animales alimentados con forrajes de baja calidad (Köster y col., 1996; Mathis y col., 2000; Wickersham y col., 2008b). Sin embargo, la ingestión de grandes cantidades de sal a través del agua de bebida puede alterar el patrón de respuesta a la suplementación proteica cuando los rumiantes son alimentados con forrajes deficientes en N. En el estudio previo (Cap. III), se reportó una interacción entre la suplementación proteica y la salinidad del agua sobre el consumo de heno de baja calidad en novillos, donde el nivel de harina de soja suplementaria para alcanzar un nivel equivalente de

consumo de MO total fue mayor en animales consumiendo aguas de bebida salada comparado con aquellos bebiendo agua con bajos tenores salinos.

Los rumiantes poseen mecanismos eficientes de ahorro de N para hacer frente a dietas deficientes en proteínas (Marini y Van Amburgh, 2003; Wickersham y col., 2004), en el cual los riñones cumplen un rol primario. Se han observado reducciones en la tasa de filtración glomerular (TFG) y en la excreción de N-urea en animales consumiendo dietas deficientes en proteína (Ergene y Pickering, 1978; Tebot y col., 1998; Starke y col., 2012). Sin embargo, la hemodinámica renal puede ser modificada no solo por el nivel de proteína dietario sino también por el consumo de sales, alterando la habilidad de los riñones para conservar N-urea. Estudios anteriores han demostrado que elevados consumos de sal altera la utilización del N por los rumiantes, elevándose la excreción urinaria de N y disminuyéndola urea plasmática (Godwin y Williams, 1984; Meintjes y Engelbrecht, 2004). Sin embargo, existe escasez de información sobre los posibles mecanismos subyacentes a la interacción entre la suplementación proteica y el agua de bebida salada rica en sulfatos sobre la utilización de forrajes de baja calidad.

Un mejor entendimiento de la interacción entre la suplementación proteica y el agua de bebida alta en sulfatos sobre el consumo de forrajes de baja calidad permitirá mejorar la predicción de respuesta a la suplementación proteica. Aguas superficiales y subterráneas conteniendo sulfatos en exceso son comunes alrededor del mundo y representan un problema de relevancia para los sistemas productivos ganaderos (Weeth and Hunter, 1971), como en las regiones áridas y semiáridas de Argentina (Basán Nickisch, 2007). El presente estudio fue diseñado para determinar el impacto de la suplementación con harina de soja sobre el consumo, digestión, balance N, y función renal de corderos consumiendo un forraje de baja calidad y bebiendo agua con concentración de sulfatos alta o baja.

3. Materiales y Métodos

El experimento se realizó siguiendo el protocolo aprobado por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) para el cuidado y uso de animales en experimentación (INTA, 2013).

3.1. Diseño experimental:

Se utilizaron 20 corderos Hampshire ($n = 4$; 31 ± 4 kg PV) alojados en jaulas metabólicas individuales, en un ensayo de 10 tratamientos por 2 períodos. La estructura de los tratamientos fue un factorial de 2×5 , resultado de la combinación de 2 calidades de agua y 5 niveles de harina de soja (HS). La calidad del agua de bebida estuvo representada por una concentración baja (SB; 442 mg/l de sólidos totales disueltos [STD]) y una alta (SA; 8.358 mg/l STD) de sulfatos (Tabla 1). El agua SB se obtuvo de la represa del establecimiento donde se llevó a cabo el trabajo, mientras que para obtener SA se agregó sulfato de sodio (Na_2SO_4) a SB hasta lograr la concentración objetivo. Los niveles de HS fueron 0%, 0,25%, 0,50%, 0,75%, y 1,00% PV/d (base seca).

Los corderos se alimentaron con heno de forraje de baja calidad (*Megathyrus maximus* cv. Gatton panic; Tabla 2), una vez al día (0700 h) y al 130% del consumo voluntario, después que todos los animales habían consumido el suplemento proteico. A su vez, cada cordero recibió 6 g/d de una mezcla mineral (27,67% calcio, 9,26% sodio, 0,62% magnesio, 0,31% fósforo, 2.592,5 mg/kg zinc, 2.037,0 mg/kg manganeso, 555,5 mg/kg cobre, 30,8 mg/kg yodo, 18,5 mg/kg selenio, 6,17 mg/kg cobalto, y 0,22% monensina; RTC, Bs. As., Argentina).

Cada período experimental tuvo una duración de 21 d. Los primeros 15 d se destinaron para adaptación de los corderos a los tratamientos, del d 16 al 20 se evaluó el consumo de agua y de alimento, el balance N y la digestibilidad del alimento, y en el d 21 se extrajeron muestras de sangre y de gas ruminal (este último solamente durante el período 2).

3.2. Muestreo y mediciones:

En ambos períodos experimentales, desde el d 16 al 21, diariamente se tomaron muestras de forraje y remanente de cada jaula justo antes del horario de suministro de alimento. Al mismo tiempo se recolectaron y pesaron heces y orina. La orina se colectó en recipientes con suficiente HCl 1,25 N para mantener el pH por debajo de 3, para minimizar las pérdidas de N entre los momentos de recolección.

Inmediatamente seguido a cada recolección, se midió el pH de la orina (pH-metro portátil Oakton, Vernon Hills, IL). Alícuotas de heces (10% de la producción diaria) y orina (5% de la producción diaria) fueron retenidas y almacenadas en *freezer* hasta el análisis en laboratorio. También se recolectaron muestras compuestas de agua para cada calidad y durante cada período experimental.

El d 21 de cada período se extrajo una muestra de sangre de cada cordero a las 0 y 8 h post-alimentación. La sangre obtenida por punción de la vena yugular se colectó en un tubo heparinizados y fue inmediatamente refrigerada. El análisis sanguíneo se realizó dentro de las 6 h desde la obtención de las muestras. Adicionalmente, en el período 2 se tomó una muestra de 20 ml de gas ruminal por punción, 8 h post-alimentación. Se siguió el procedimiento utilizado por Gould y col. (1997), excepto que la muestra se obtuvo con jeringa, y 10 ml (en duplicado) fueron colocados en tubos vacutainer con agua alcalina (pH > 8) para su posterior análisis dentro de las 2 h de realizada la colección.

3.3. Procesamiento de las muestras y análisis de laboratorio:

Las muestras de forraje, remanentes, heces y orinas fueron compuestas a través de los días para cada cordero dentro de cada período. El forraje, los remanentes y las heces fueron secadas parcialmente en estufa de aire forzado (96 h a 55 °C), pesadas y molidas (molino Wiley No. 4, 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. 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).

La concentración de creatinina en orina y plasma y la concentración de urea en orina se determinaron mediante métodos cinéticos, utilizando kits comerciales (Wiener Lab S.A.I.C., Rosario, Argentina) y un analizador automático (BS-300 Chemistry Analyzer, Mindray, Shenzhen, China). El nitrógeno ureico plasmático (NUP) se analizó mediante un kit de método enzimático (GT Lab, Rosario, Argentina), empleando un espectrofotómetro (Metrolab 330, Metrolab UV Vis, Bs. As., Argentina). La concentración ruminal de H₂S fue medida espectrofotométricamente (Cole-Parmer 1200, Cole-Parmer, Vernon Hills, IL) siguiendo el procedimiento de Leibovich y col. (2009).

El consumo de alimento de cada cordero se calculó diariamente restando la MO remanente a la MO ofrecida, mientras que el consumo de agua se midió en forma diaria mediante la variación en altura del pelo de agua en el bebedero de cada cordero. El consumo de alimento y la producción total de heces se utilizaron para calcular la digestibilidad aparente del heno de forraje (*Megathyrus maximus* cv. Gatton panic), 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. La tasa de filtración glomerular (TFG) se estimó a partir del aclaramiento de creatinina sobre la base de cálculos de Hall (2010). La reabsorción de urea se determinó mediante la diferencia entre la urea filtrada por los riñones y la urea excretada en orina. La urea filtrada (carga tubular de urea) se calculó multiplicando el NUP por la TFG.

3.4. Análisis estadístico:

Excepto para la concentración ruminal de H₂S, todos los datos fueron analizados con modelos mixtos utilizando el software InfoStat (Di Rienzo y col., 2014), a partir del siguiente modelo general:

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

donde y_{ijkl} es la respuesta para el período i sobre el cordero j en el nivel k de suplementación y calidad de agua l , μ es la media general, p_i es el efecto aleatorio del período i , s_j es el efecto aleatorio del cordero j (anidado dentro de HS), r_k es el efecto fijo del nivel k de suplementación, c_l es el efecto fijo de la calidad

del agua l , $(rc)_{kl}$ es el efecto fijo de la interacción entre el nivel k de suplementación con la calidad de agua l , y ε_{ijkl} es el error aleatorio.

La concentración ruminal de H_2S fue analizada según un diseño factorial completamente aleatorizado, utilizando el software InfoStat. En este caso el modelo para el análisis estadístico fue:

$$y_{kl} = \mu + r_k + c_l + (rc)_{kl} + \varepsilon_{kl}$$

donde y_{kl} es la respuesta sobre la concentración de H_2S en el nivel k de suplementación y calidad de agua l , μ es la media general, r_k es el efecto fijo del nivel k de suplementación, c_l es el efecto fijo de la calidad del agua l , $(rc)_{kl}$ es el efecto fijo de la interacción entre el nivel k de suplementación con la calidad de agua l , y ε_{ijkl} es el error aleatorio.

Se realizaron contrastes de polinomios ortogonales lineales, cuadráticos y cúbicos para particionar la suma de cuadrados de los tratamientos. 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 a un P entre 0,05 y 0,10.

4. Resultados

4.1. Consumo de alimento y agua

La interacción entre HS \times calidad del agua de bebida fueron significativas para el consumo de MO del forraje (CMOF; $P = 0,04$), MO total (CMOT; $P = 0,04$), FDN total (CFDNT; $P = 0,04$) y FDN total digestible (CFDNTD; $P = 0,03$); por otro lado, la interacción tendió a ser significativa para el consumo de MO total digestible (CMOTD; $P = 0,07$; Tabla 3). Estas interacciones se manifestaron en los niveles más bajos de suplementación con HS (0% y 0,25% PV/d). Cuando los corderos bebieron agua SB, el CMOF y el CFDNTD siguieron una tendencia lineal decreciente ($P = 0,06$ y $P < 0,05$, respectivamente) con niveles crecientes de HS suplementaria, mientras que el CMOT no fue afectado por la HS. Por el contrario, CMOF ($P = 0,90$) y CFDNTD ($P = 0,79$) no resultaron alterados, mientras CMOT aumentó linealmente ($P < 0,01$)

con la adición de HS cuando los corderos ingirieron el agua SA. Es importante notar que aunque CMOTD creció linealmente ($P < 0,05$) ante aumentos en los niveles de suplementación proteica independientemente de la calidad del agua, los corderos que bebieron SB tuvieron mayor CMOTD ($P < 0,05$) que los corderos SA solamente en el primer y segundo nivel de HS (0% y 0,25% PV/d). Por otra parte, no se observó interacción HS \times calidad del agua para el consumo de agua (CA; $P = 0,60$), el cual tendió a responder a los distintos niveles de HS ($P = 0,07$) de manera positiva lineal ($P < 0,01$) pero no fue afectado por su calidad ($P = 0,39$).

4.2. Digestibilidad del alimento

No se registraron interacciones HS \times agua para ninguna de las variables de digestión evaluadas ($P > 0,52$; Tabla 3). La calidad del agua y la suplementación con HS afectaron la digestibilidad de la MO total (DMOT; $P < 0,01$ y $P = 0,01$, respectivamente), pero no tuvieron efectos sobre la digestibilidad de la FDN total (DFDNT; $P = 0,10$ y $P = 0,22$, respectivamente). La digestión de la MO fue mayor ($P < 0,01$) en corderos SA comparado con los corderos SB. La suplementación proteica incrementó linealmente DMOT ($P < 0,01$).

4.3. Balance de Nitrógeno

Los valores del balance N no fueron alterados por la interacción HS \times agua ($P > 0,12$), excepto para el N retenido como porcentaje del N total consumido (N retenido / N consumido; $P < 0,01$; Tabla 4). El tratamiento SA afectó negativamente el consumo de N ($P < 0,01$), y provocó menor excreción de N fecal ($P < 0,01$) y menor balance de N ($P < 0,01$). En contraste, la excreción de N urinario fue menor en los corderos SB que en los SA ($P = 0,03$). El consumo de N ($P < 0,01$), el N en orina ($P < 0,01$) y el balance de N ($P < 0,01$) aumentaron linealmente en la medida que se incrementaron los niveles de HS, aunque la excreción de N en heces no fue afectada ($P = 0,26$). Merece destacarse que aunque el balance N resultó ser menor en SA con respecto a SB sin suplementación (-3,4 y -1,7, respectivamente; $P = 0,05$), este no difirió con el nivel más alto de HS (4,2 y 4,0, respectivamente; $P = 0,85$). A pesar que el N retenido / N

consumido aumentó linealmente ($P < 0,01$) y con una tendencia cuadrática ($P = 0,08$) en corderos SB y de manera cúbica en los corderos SA ($P = 0,03$) ante incrementos en los niveles de HS, la respuesta de mayor magnitud ocurrió con el primer agregado de HS suplementaria (0,25% PV/d).

4.4. Nitrógeno ureico en plasma

El NUP no fue afectado por la interacción HS \times agua ($P = 0,38$; Tabla 5). La calidad del agua no tuvo efectos sobre NUP ($P = 0,11$), mientras que aumentó linealmente en la medida que el nivel de HS se incrementó ($P < 0,01$).

4.5. Producción de orina y función renal

A excepción de la concentración de urea urinaria (CUU; $P < 0,03$), la interacción HS \times agua no afectó al volumen de orina producido ($P = 0,25$), a la urea urinaria como porcentaje del N total urinario (UU/NTU; $P = 0,86$), a la urea reabsorbida por los riñones ($P = 0,61$), ni a la TFG ($P = 0,37$). La interacción observada para CUU se originó en el nivel más elevado de HS como resultado de una mayor concentración de urea en orina ($P < 0,05$) en los corderos bebiendo SB comparado a aquellos que bebieron SA. La producción de orina fue superior ($P < 0,03$) en los corderos SA, mientras la calidad del agua no modificó la relación UU/NTU, la reabsorción de urea, ni tampoco la TFG ($P > 0,30$). Los resultados de niveles incrementales de HS fueron una reducción a tasa decreciente en la reabsorción de urea (cuadrático; $P = 0,08$) y un incremento lineal en la producción de orina y en la TFG ($P < 0,01$).

4.6. Consumo de azufre y concentración ruminal de H₂S

El consumo de azufre a través del agua de bebida (CSA) y el consumo de azufre total (CST) tendieron a ser modificados por la interacción HS \times agua ($P = 0,10$ y $P = 0,08$, respectivamente; Tabla 6). El CSA y el CST aumentaron linealmente ($P < 0,01$) en los corderos SA, pero no en el grupo de corderos SB, a niveles incrementales de HS ($P = 0,98$ y $P = 0,11$, respectivamente). La interacción HS \times agua afectó la concentración ruminal de H₂S ($P > 0,01$), debido principalmente a un marcado incremento en la

concentración de H₂S a partir del nivel 0,25% PV/d de HS en los corderos ingiriendo SA. Con niveles intermedios de suplementación, la concentración de H₂S se estabilizó en los corderos SA (relación cuadrática; $P < 0,01$).

5. Discusión

Los resultados obtenidos en este estudio confirman que el agua de bebida con concentraciones elevadas de sulfato puede deprimir la utilización de los forrajes de baja calidad por los rumiantes, y que el potencial de estimulación del consumo de este tipo de forraje mediante la suplementación proteica es mayor en animales bebiendo agua con un contenido alto de sulfatos. El CMOTD se incrementó alrededor de un 30% y un 15% en los corderos SA y SB, respectivamente, cuando se suplementó a los animales con 0,25% PV/d de HS. Está generalmente aceptado que la PDR debe encontrarse entre 7% y 13% del consumo de MO digestible (Hollongsworth-Jenkins y col., 1996; Köster y col., 1996; Cochran y col., 1998) para maximizar la utilización del forraje base; sin embargo, niveles mayores de PDR pueden ser necesitados cuando los animales beben agua con concentraciones elevadas de solutos. En el presente ensayo, los corderos SA pudieron igualar el CMOTD de los SB recién cuando el nivel de suplementación fue del 0,50% PV/d, lo que representó una relación PDR : CMOTD de aproximadamente 17,5% (calculada utilizando NRC, 2000), valor bastante por encima al rango de referencia antes mencionado.

El patrón observado para el CMOF con niveles crecientes de HS explica en gran medida las diferencias en el CMOTD discutidas arriba. Hasta 0,50% PV/d de suplementación con HS, los corderos SB disminuyeron CMOF en un 14%, en cambio en los SA el consumo de forraje aumentó un 21% con respecto a los tratamientos sin suplementación. Una posible explicación puede ser la diferencia en el CFDNT entre los animales SB y SA cuando no recibieron ningún aporte proteico. Se ha establecido que un impacto positivo de la suplementación proteica puede ser posible cuando el consumo de forraje está por debajo de 12 g/kg PV (Mertens, 1994; Ferrel y col., 1999). En el presente ensayo, los corderos SB y SA exhibieron

CFDNT de 14,4 y 9,1 g/kg PV respectivamente, en los tratamientos sin suplementación (0% PV/d). A pesar que el suministro de una fuente proteica estimula el consumo de forrajes deficientes en N en vacunos para carne (Bodine y col., 2000; Mathis y col., 2000; Bandyk y col., 2001), estudios similares en ovejas son consistentes con los resultados del presente estudio (Bohnert y col., 2002; Currier y col., 2004; Salisbury y col., 2004; Atkinson y col., 2010). Por ejemplo, Chandrasekharaiah y col. (2012) observaron que el CMOF decreció linealmente ante niveles incrementales de HS suplementaria en ovejas alimentadas con paja de mijo (4,3% PB). A su vez, en un estudio reciente, el consumo de forraje en carneros castrados no fue mejorado con el suministro de HS o urea como fuentes nitrogenadas, mientras que novillos consumiendo el mismo forraje (4,7% PB) mostraron un aumento en su consumo con el agregado de urea o de HS (McGuire y col., 2013). Los autores atribuyeron estas diferencias en parte a un CFDNT superior en los corderos no suplementados. Esta discrepancia entre especies parece estar relacionada con la mayor habilidad de los ovinos a consumir forrajes con altos contenidos de FDN como resultado de un menor tiempo de retención de la ingesta en el rumen (Riaz y col., 2014). Los resultados y argumentos mencionados explicarían porque el CMOF aumentó en respuesta a la suplementación proteica solo en los corderos bebiendo agua SA.

Por otro lado, la reducción en el consumo de alimento ocasionado por la ingesta de agua con elevadas concentraciones de sales (particularmente en sulfatos) observado en este ensayo es consistente con los resultados de trabajos anteriores (Weeth y Hunter, 1971; Weeth y Capps, 1972; Ward y Patterson, 2004). Similar a los datos obtenidos en el ensayo del capítulo III, en el presente estudio el CMOT resultó un 36% menor en los corderos SA comparados con los SB cuando ambos grupos de animales recibieron el tratamiento 0% PV/d de suplementación con HS.

Los mecanismos por el cual los sulfatos en el agua de bebida afectan el consumo de alimento permanecen sin aclararse. Algunos autores han sugerido que el H₂S producido por las bacterias reductoras de sulfatos (BRS) puede afectar adversamente la motilidad ruminal, aumentando el tiempo de retención

y la digestibilidad del contenido ruminal (Bird, 1972; Kandyliis, 1984; Drewnoski y col., 2014), con la consecuente reducción en el consumo de alimento (Loneragan y col., 2001; Uwituze y col., 2011; Drewnoski y Hansen, 2013). A pesar de esto, en el presente estudio las concentraciones de H₂S no logran explicar la disminución en CMOTD observada en los corderos SA con 0% y 0,25% PV/d de HS, sugiriendo que metabolitos intermedios de la reducción de sulfatos en el fluido ruminal (ej. HS⁻) podrían haber deprimido CMOTD. A pesar de que no se registró el pH del rumen, con niveles bajos de suplementación proteica la formación de H₂S a partir de sulfuro (proceso pH-dependiente) podría haber estado inhibida debido a la naturaleza fibrosa de la dieta (Richter, 2011; Drewnoski y col., 2014; Morine y col., 2014). De acuerdo a mi conocimiento, esta es la primera vez que una interacción HS × calidad de agua se reporta para la concentración ruminal de H₂S *in vivo*. No obstante, se requiere de más investigación para mejorar la comprensión de los mecanismos involucrados en la producción de H₂S, que permitan generar estrategias de suplementación eficientes cuando los rumiantes son alimentados con forrajes de baja calidad.

Los efectos que la suplementación proteica genera sobre la digestión de los forrajes de baja calidad varían, con estudios que informan mejoras tanto en DMOT como en DFDNT (Arroquy y col., 2004; Wickersham y col., 2004, 2008b; Chandrasekharaiah y col., 2012), o solo en DMOT (Bandyk y col., 2001; Sanson y col., 2003; Schauer y col., 2010), mientras que en otros no se observaron respuestas (Salisbury y col., 2004; Wickersham y col., 2008a). En el presente estudio, el incremento en DMOT sería ampliamente atribuido a un efecto directo de la HS altamente digestible, debido a que el aumento en el consumo de proteína no mejoró DFDNT. Al mismo tiempo, el agua SA alteró positivamente DMOT, lo que podría estar relacionado con un incremento en el tiempo de retención de la ingesta en el rumen como se explicó anteriormente para el consumo, pero que habría resultado insuficiente para afectar la digestibilidad de la fibra.

En concordancia con resultados anteriores (Godwin y Williams, 1984; Holter y Urban, 1992) y con los reportados en el capítulo III, aumentos en el contenido proteico de la dieta estimularon el consumo de agua. Sin embargo, una respuesta no esperada fue la falta de efecto de la calidad del agua sobre el consumo de agua, lo cual sugiere que el nivel de 6.363 mg/kg de sulfatos en el agua de bebida estuvo por debajo del umbral de discriminación bajo las condiciones experimentales del presente estudio (Digesti y Weeth, 1976). Es importante resaltar que el experimento se llevó a cabo con temperaturas medias (21,9°C, 30,0°C, y 14,1°C para temperaturas diarias medias, máximas, y mínimas, respectivamente), lo que redujo los requerimientos de agua y posiblemente disminuyó los efectos de los sulfatos sobre el consumo de agua (Ray, 1989; Loneragan y col., 2001).

En líneas generales la suplementación proteica incrementa la retención y eficiencia de utilización del N en rumiantes consumiendo forrajes deficientes en N (Bohnert y col., 2002; Swanson y col., 2004; McGuire y col., 2013). Chandrasekharaiah y col. (2012) observaron un incremento cuadrático en el balance y retención de N en respuesta a la suplementación proteica en ovejas. Una respuesta similar fue observada en el presente estudio independientemente de la calidad del agua, a pesar que se requirió un nivel alto de HS (1,00% PV/d) para maximizar el balance y eficiencia de utilización del N en los corderos consumiendo agua con contenido elevado de sulfatos. Investigaciones previas han mostrado que la disponibilidad del agua de bebida puede alterar la eficiencia con la que los rumiantes utilizan el N (Silanikove, 2000; Ghassemi Nejad y col., 2014), destacándose el rol de los riñones en la conservación de N-urea (Marini y Van Amburgh, 2003; Marini y col., 2004; Meintjes y Engelbrecht, 2004). La urea es el componente nitrogenado más abundante de la orina en los mamíferos (Huntington y col., 2001; Dijkstra y col., 2013); por lo tanto, el manejo renal de la urea es un factor crítico en la economía del N, particularmente en animales alimentados con dietas deficitarias en proteína (Starke y col., 2012). Considerando que el consumo de agua no difirió entre los grupos SA y SB en ninguno de los niveles de suplementación empleados en los tratamientos, los resultados del presente ensayo sugieren que las

alteraciones en el balance N fueron una consecuencia de la depresión en CMOF, en lugar de una alteración de la calidad del agua sobre la función renal. Este argumento es consistente con el hecho que el NUP, la relación UU/NTU, la reabsorción de urea y la TFG no se modificaron por la calidad del agua. Dado que la urea se filtra libremente en el glomérulo, el producto de la TFG y el NUP determina la excreción máxima teórica de urea por los riñones (Hall, 2000), aunque la excreción final de urea queda definida por la eficiencia de reabsorción en los túbulos renales. Algunos autores sugieren que la capacidad de reabsorción de N por los riñones es dependiente del consumo de sal (Godwin y Williams, 1984; Meintjes y Engelbrecht, 2004); sin embargo, en el presente estudio la habilidad para retener N fue modificada únicamente por el nivel de HS suplementaria. Los corderos consumiendo agua con concentraciones elevadas de sulfatos produjeron mayor volumen de orina que los corderos SB, lo que indicaría un proceso de diuresis osmótica atribuible a una carga de solutos en los túbulos renales incrementada. En ratas se ha documentado que la diuresis osmótica aumenta la abundancia de transportadores específicos de urea (UT-A1) en el conducto colector medular interno (Kim y col., 2005). A pesar que los mecanismos de regulación no están claramente establecidos, la concentración de urea en el fluido tubular parece ser uno de los factores que regula la expresión de estos transportadores específicos (Sands, 1999; Kim y col., 2005). Starke y col. (2012) concluyeron que la reabsorción de urea en el riñón se elevó vía una hiperactividad de la expresión de ARNm del UT-A1 en cabras consumiendo una dieta deficiente en N. Por lo tanto, en el presente estudio una mayor abundancia posible de transportadores de urea en los corderos SA podría haber facilitado la reabsorción de urea en una situación donde la concentración tubular de urea fue baja debido a la relativa menor absorción de agua.

6. Conclusión

La suplementación proteica mejoró la retención de N en corderos consumiendo forraje de baja calidad y bebiendo agua con contenido elevado de sulfatos. A pesar de esto, se requirieron mayores niveles de suplementación para maximizar el consumo de MO digestible y la eficiencia de utilización del

N en corderos SA que en los corderos SB. Estos resultados confirman la existencia de una interacción entre la calidad del agua y la suplementación proteica que altera la respuesta a la utilización de los forrajes de baja calidad por los rumiantes.

7. Bibliografía

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. Official methods of analysis. 15th ed. AOAC, Arlington VA.
- Arroquy, J. I., R. C. Cochran, M. Villareal, T. A. Wickersham, D. A. Llewellyn, E. C. Titgemeyer, T.G. Nagaraja, D. E. Johnson, D. Gnad. 2004. Effect of level of rumen degradable protein and type of supplemental non-fiber carbohydrate on intake and digestion of low-quality grass hay by beef cattle. *Anim. Feed Sci. Tech.* 155: 83-99.
- Atkinson, R. L., C. D. Toone, T. J. Robinson, D. L. Harmon, P. A. Ludden. 2010. Effects of ruminal protein degradability and frequency of supplementation on nitrogen retention, apparent digestibility, and nutrient flux across visceral tissues in lambs fed low-quality forage. *J. Anim. Sci.* 88:727-736.
- 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.
- Basán Nickisch, M. 2007. Manejo de los Recursos Hídricos en Zonas Áridas y Semiáridas para Áreas de Secano. INTA, Buenos Aires.
- Bird, P. R. 1972. Sulphur metabolism and excretion studies in ruminants X. Sulphide toxicity in sheep. *Aust. J. Biol. Sci.* 25:1073-1085.
- Bodine, T. N., H. T. Purvis, C. J. Ackerman, C. L. Goad. 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., C. S. Schauer, T. DelCurto. 2002. 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.

- Chandrasekharaiah, M., A. Thulasi, K. T. Sampath. 2012. Effect of different rumen degradable nitrogen levels on microbial protein synthesis and digestibility in sheep fed on finger millet straw (*Eleusinecoracana*) based diet. *Small Rumin. Res.* 102:151-156.
- Cochran, R. C., H. H. Köster, K. C. Olson, J. S. Heldt, C. P. Mathis, B. C. Woods. 1998. Supplemental protein sources for grazing cattle. In: 9th Florida Ruminant Nutrition Symposium, Gainesville. P. 123-136.
- Currier, T. A., D. W. Bohnert, S. J. Falck, S. J. Bartle. 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.
- Di Rienzo, J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada, C. W. Robledo. 2014. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- Digesti, R. D., y H. J. Weeth. 1976. A defensible maximum for inorganic sulfate in drinking water of cattle. *J. Anim. Sci.* 42:1498-1502.
- Dijkstra, J., O. Oenema, J. W. van Groenigen, J. W. Spek, A. M. van Vuuren, A. Bannink. 2013. Diet effects on urine composition of cattle and N₂O emissions. *Animal* 7:292-302.
- Drewnoski, M. E., y S. L. Hansen. 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.
- Drewnoski, M. E., D. J. Pogge, S. L. Hansen. 2014. High-sulfur in beef cattle diets: A review. *J. Anim. Sci.* 92:3763-3780.
- Ergene, N., y E. C. Pickering. 1978. The effects of reducing dietary nitrogen and of increasing sodium chloride intake on urea excretion and reabsorption and on urine osmolality in sheep. *Q. J. Exp. Physiol.* 63:67-76.
- Ferrell, C. L., K. K. Kreikemeier, H. C. Freetly. 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.
- GhassemiNejad, J., J. D. Lohakare, J. W. West, K. I. Sung. 2014. Effects of water restriction after feeding during heat stress on nutrient digestibility, nitrogen balance, blood profile and characteristics in Corriedale ewes. *Anim. Feed. Sci. Tech.* 193:1-8.
- Godwin, I. R., y V. J. Williams. 1984. Renal control of plasma urea level in sheep: The diuretic effect of urea, potassium and sodium chloride. *Exp. Physiol.* 69:49-59.

- Gould, D. H., B. A. Cummings, D. W. Hamar. 1997. In vivo indicators of pathologic ruminal sulfide production in steers with diet-induced polioencephalomalacia. *J. Vet. Diagn. Invest.* 9:72-76.
- Hall, J. E. 2010. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 12th ed. Elsevier Health Sciences. pp.1120.
- Hollingsworth-Jenkins, K. J., T. J. Klopfenstein, D. C. Adams, J. B. Lamb. 1996. Ruminally degradable protein requirement of gestating beef cows grazing native winter sandhills range. *J. Anim. Sci.* 74:1343-1348.
- Holter, J. B., y W. E. Urban. 1992. Water partitioning and intake prediction in dry and lactating holstein cows. *J. Dairy Sci.* 75:1472-1479.
- Huntington, G., M. Poore, B. Hopkins, J. Spears. 2001. Effect of ruminal protein degradability on growth and N metabolism in growing beef steers. *J. Anim. Sci.* 79:533-541.
- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). 2013. Guía para cuidado y uso de animales de experimentación. (In Spanish) <http://inta.gob.ar/documentos/manuales-sobre-cuidado-y-supervisión-y-uso-de-animales>. Accessed Apr. 10, 2015.
- Kandyliis, K. 1984. Toxicology of sulfur in ruminants. Review. *J. Dairy Sci.* 67:2179-2187.
- Kim, D., J. D. Klein, S. Racine, B. P. Murrell, J. M. Sands. 2005. Urea may regulate urea transporter protein abundance during osmotic diuresis. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 288:188-197.
- Köster, H. H., R. C. Cochran, E. C. Titgemeyer, E. S. Vanzant, I. Abdelgadir, G. St-Jean. 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.
- Leibovich, J., J. T. Vasconcelos, M. L. Galyean. 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.
- Loneragan, G. H., J. J. Wagner, D. H. Gould, F. B. Garry, M. A. Thoren. 2001. Effects of water sulfate concentration on performance, water intake, and carcass characteristics of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 79:2941-2948.
- Marini, J. C., y M. E. Van Amburgh, 2003. Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers. *J. Anim. Sci.* 81:545-552.
- Marini, J. C., J. D. Klein, J. M. Sands, M. E. Van Amburgh. 2004. Effect of nitrogen intake on nitrogen recycling and urea transporter abundance in lambs. *J. Anim. Sci.* 82:1157-1164.

- Mathis, C. P., R. C. Cochran, J. S. Heldt, B. C. Woods, I. E. Abdelgadir, K. C. Olson, E. C. Titgemeyer, E. S. Vanzant. 2000. Effects of supplemental degradable intake protein on utilization of medium to low-quality forages. *J. Anim. Sci.* 78:224-232.
- McGuire, D. L., D. W. Bohnert, C. S. Schauer, S. J. Falck, R. F. Cooke. 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., y H. Engelbrecht. 2004. Changes in the renal handling of urea in sheep on a low protein diet exposed to saline drinking water. *Onderstepoort 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.
- Morine, S. J., M. E. Drewnoski, S. L. Hansen. 2014. 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.
- NRC. 2000. Nutrient requirements of beef cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Ray, D. E. 1989. Interrelationships among water quality, climate and diet on feedlot performance of steer calves. *J. Anim. Sci.* 67:357-363.
- Riaz, M. Q., K. H. Südekum, M. Clauss, A. Jayanegara. 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 performance, mineral status, rumen hydrogen sulfide, and rumen microbial populations in yearling beef steers. MS Thesis. Iowa State University, Ames, IA.
- Salisbury, M. W., C. R. Krehbiel, T. T. Ross, C. L. Schultz, L. L. Melton. 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.
- Sands, J. M. 1999. Regulation of renal urea transporters. *J. Am. Soc. Nephrol.* 10:635-646.
- Sanson, D. W., S. I. Paisley, R. J. Gaebe. 2003. Utilization of mature low-quality grass hay by lambs and steers supplemented with soybean meal products. *Prof. Anim. Sci.* 19:290-296.
- Schauer, C. S., M. L. Van Emon, M. M. Thompson, D. W. Bohnert, J. S. Caton, K. K. Sedivec. 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.

- Silanikove, N. 2000. The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments. *Small Rumin. Res.* 35:181-193.
- Starke, S., A. S. Muscher, N. Hirschhausen, E. Pfeffer, G. Breves, K. Huber. 2012. Expression of urea transporter is affected by dietary nitrogen restriction in goat kidney. *J. Anim. Sci.* 90:3889-3897.
- Swanson, K. C., H. C. Freetly, C. L. Ferrell. 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.
- Tebot, I., S. Faix, M. Szanyiova, A. Cirio, L. Leng. 1998. Micropuncture study on urea movements in the kidney cortical tubules of low protein fed sheep. *Vet. Res.* 29:99-105.
- Uwituze, S., G. L. Parsons, K. K. Karges, M. L. Gibson, L. C. Hollis, J. J. Higgins, J. S. Drouillard. 2011. Effects of distillers grains with high sulfur concentration on ruminal fermentation and digestibility of finishing diets. *J. Anim. Sci.* 89:2817-2828.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583–3597.
- Ward, E. H., y H. H. Patterson. 2004. Effects of thiamin supplementation on performance and health of growing steers consuming high sulfate water. *Proc. Am. Soc. Anim. Sci. West. Sec.* 55:375-378.
- Weeth, H. J., y D. L. Capps. 1972. Tolerance of growing cattle for sulfate-water. *J. Anim. Sci.* 34:256-260.
- Weeth, H. J., y J. E. Hunter. 1971. Drinking of sulfate-water by cattle. *J. Anim. Sci.* 32:277-281.
- Wickersham, T. A., E. C. Titgemeyer, R. C. Cochran, E. E. Wickersham, E. S. Moore. 2008a. Effect of frequency and amount of rumen-degradable intake protein supplementation on urea kinetics and microbial use of recycled urea in steers consuming low-quality forage. *J. Anim. Sci.* 86:3089-3099.
- Wickersham, T. A., E. C. Titgemeyer, R. C. Cochran, E. E. Wickersham, D. P. Gnad. 2008b. 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., R. C. Cochran, E. C. Titgemeyer, C. G. Farmer, E. A. Klevesahl, J. I. Arroquy, D. E. Johnson, D. P. Gnad. 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. Technol.* 115:19-36.

Tabla 1. Sólidos totales disueltos y contenido mineral en el agua de bebida.

Item	SB ¹	SA
	mg/l	
Sólidos totales disueltos	442	8.358
Calcio	36	83
Magnesio	11	21
Sodio	96	3.843
Sulfatos	108	6.363
Carbonatos	207	366
Cloruros	69	138

¹SB = agua con concentración de sulfatos baja; SA = agua con concentración de sulfatos alta.

Tabla 2. Composición química del heno y de la harina de soja.

Item	Heno	Harina de soja
	% MS	
Materia orgánica	89,7	94,0
Proteína Bruta	6,4	45,9
Fibra Detergente Neutro	79,5	12,8
Fibra Detergente Ácido	54,3	7,8

Tabla 3. Efecto de la harina de soja (HS) y la calidad del agua sobre el consumo de agua (CA), el consumo MO del forraje (CMOF), consumo MO total (CMOT), consumo FDN total (CFDNT), consumo MO total digestible (CMOTD), consumo FDN total digestible (CFDNTD), digestibilidad MO total (DMOT) y sobre la digestibilidad FDN total (DFDNT) en corderos alimentados con heno de forraje de baja calidad.

Item	Calidad del agua ¹										EEM	P-valores			HS ²		
	SB					SA						Agua	HS	Agua × HS	L	Q	C
	HS(% PV/d)					HS (% PV/d)											
	0	0,25	0,50	0,75	1,00	0	0,25	0,50	0,75	1,00							
CA, g/kgPV ^{0,75}	153,0	147,1	157,9	173,8	194,6	141,5	123,9	159,8	170,5	202,2	16,42	0,39	0,07	0,60	<0,01	0,25	0,64
CMOF, g/kgPV ^{0,75}	37,9	37,1	33,2	29,1	27,7	23,9	26,6	28,9	25,7	25,3	4,49	< 0,01	0,86	0,04			
CMOT, g/kgPV ^{0,75}	37,9	41,7	42,4	43,3	45,6	23,9	31,6	38,0	39,4	43,5	4,47	< 0,01	0,25	0,04			
CFDNT, g/kgPV ^{0,75}	34,0	33,9	31,1	28,3	27,4	21,6	24,6	27,3	25,2	25,4	3,85	< 0,01	0,97	0,04			
CMOTD, g/kgPV ^{0,75}	19,4	22,4	22,0	25,5	28,6	13,6	17,7	21,5	26,3	27,5	2,32	0,01	0,01	0,07	<0,01	0,98	0,97
CFDNTD, g/kgPV ^{0,75}	19,4	17,7	14,6	14,2	13,7	12,9	13,0	14,1	14,7	12,9	2,06	< 0,01	0,86	0,03			
DMOT, %	50,0	53,0	51,2	60,6	62,2	53,1	56,1	56,3	67,6	63,6	2,98	< 0,01	0,01	0,69	<0,01	0,79	0,36
DFDNT,%	56,1	52,0	46,4	50,9	48,2	56,2	51,9	51,3	58,9	50,0	3,21	0,10	0,22	0,52	0,19	0,56	0,14

¹SB = agua con concentración de sulfatos baja; SA = agua con concentración de sulfatos alta.

²Contrastes de efecto principal a través de cantidad de HS: L = lineal; Q = cuadrático; C = cúbico.

Tabla 4. Efecto de la harina de soja (HS) y la calidad del agua sobre el consumo diario de nitrógeno (N), excreción fecal y urinaria de N, y balance de N en corderos alimentados con heno de forraje de baja calidad.

Item	Calidad del agua ¹										EEM	P-valores			HS ²		
	SB					SA						Agua	HS	Agua × HS	L	Q	C
	HS(% PV/d)					HS (% PV/d)											
	0	0,25	0,50	0,75	1,00	0	0,25	0,50	0,75	1,00							
Consumo-N, g/d	5,1	10,7	14,5	19,7	22,4	3,0	9,3	13,3	18,4	22,1	1,23	<0,01	<0,01	0,45	<0,01	0,35	0,99
Fecal-N, g/d	2,7	3,5	3,8	3,5	3,4	1,6	2,4	3,0	2,8	3,3	0,45	<0,01	0,26	0,12	0,08	0,21	0,51
Orina-N, g/d	4,1	6,6	9,6	12,4	14,8	4,8	6,8	10,5	14,2	14,8	0,86	0,03	<0,01	0,39	<0,01	0,58	0,26
Balance-N, g/d	-1,7	0,5	1,1	3,8	4,2	-3,4	0,1	-0,3	1,4	4,0	0,80	<0,01	<0,01	0,32	<0,01	0,83	0,36
Retenido-N/consumido-N, %	-49,1	0,0	6,8	19,2	18,9	-104,1	-2,9	-2,3	6,7	18,2	13,12	<0,01	<0,01	<0,01			

¹SB = agua con concentración de sulfatos baja; SA = agua con concentración de sulfatos alta.

²Contrastes de efecto principal a través de cantidad suplementaria de HS: L = lineal; Q = cuadrático; C = cúbico.

Tabla 5. Efecto de la harina de soja (HS) y la calidad del agua sobre la producción de orina, nitrógeno ureico plasmático (NUP), concentración de urea urinaria (CUU), urea urinaria como porcentaje del nitrógeno total urinario (UU/NTU), reabsorción de urea por los riñones (Reabs. urea), y tasa de filtración glomerular (TFG) en corderos alimentados con heno de forraje de baja calidad.

Item	Calidad del Agua ¹										EEM	<i>P</i> -valores					
	SB					SA						Agua	HS	Agua × HS	HS ²		
	HS (% PV/d)					HS (% PV/d)									L	Q	C
	0	0,25	0,50	0,75	1,00	0	0,25	0,50	0,75	1,00							
Producción orina, g/kgPV ^{0.75}	33,3	27,4	31,2	41,3	48,9	33,6	23,2	45,3	52,8	63,1	7,31	0,03	0,03	0,25	<0,01	0,23	0,32
NUP, mg/dL	29,0	38,0	41,7	43,7	48,2	30,2	37,7	40,7	50,7	54,7	3,65	0,11	< 0,01	0,38	<0,01	0,66	0,76
CUU, g/dL	1,3	3,4	3,5	3,9	4,0	1,5	3,2	3,2	3,4	3,1	0,34	< 0,01	< 0,01	0,03			
UU/NTU, %	67,7	63,9	70,4	78,0	77,0	67,2	67,1	65,5	76,1	74,5	6,10	0,58	0,45	0,86	0,12	0,70	0,41
Reabs. urea, %	50,8	34,7	28,7	28,4	19,6	43,7	34,8	25,3	23,6	27,3	5,16	0,63	< 0,01	0,61	<0,01	0,08	0,61
TFG, mL/min	24,2	40,8	35,4	48,7	47,2	30,9	31,1	29,4	47,8	43,0	4,44	0,30	< 0,01	0,39	<0,01	0,77	0,51

¹SB = agua con concentración de sulfatos baja; SA = agua con concentración de sulfatos alta.

²Contrastes de efecto principal a través de cantidad suplementaria de HS: L = lineal; Q = cuadrático; C = cúbico.

Tabla 6. Efecto de la harina de soja (HS) y la calidad del agua sobre el consumo de azufre a través del agua de bebida (CSA), consumo de azufre total (CST), concentración ruminal de sulfuro de hidrógeno (H₂S) en corderos alimentados con heno de forraje de baja calidad.

Item	Calidad del Agua ¹										EEM	P-valores			HS ²		
	SB					SA						Agua	HS	Agua × HS	HS ²		
	HS (% PV/d)					HS (% PV/d)									L	Q	C
	0	0,25	0,50	0,75	1,00	0	0,25	0,50	0,75	1,00							
CSA, mg/kgPV ^{0,75}	5,3	5,0	5,4	5,9	6,5	315,7	286,1	374,3	399,7	464,2	33,40	< 0,01	0,13	0,10	0,02	0,49	0,61
CST ³ , mg/kgPV ^{0,75}	47,4	70,1	87,1	108,4	125,4	341,7	340,1	450,8	495,9	581,6	35,90	< 0,01	< 0,01	0,08	<0,01	0,63	0,69
H ₂ S ⁴	1,2	1,2	1,2	1,2	1,7	1,6	2,7	3,3	2,9	2,9	0,20 ⁶	< 0,01	< 0,01	0,01			
H ₂ S ⁵ ,(ppm)	(17,0)	(15,5)	(17,4)	(15,8)	(50,1)	(38,9)	(489,8)	(2089,3)	(977,2)	(955,0)							

¹ SB = agua con concentración de sulfatos baja; SA = agua con concentración de sulfatos alta.

² Contrastes de efecto principal a través de cantidad suplementaria de HS: L = lineal; Q = cuadrático; C = cúbico.

³ El contenido de azufre de los ingredientes se estimó según NRC (2000).

⁴ Datos para H₂S fueron log transformados para satisfacer el supuesto de igualdad de varianza.

⁵ Las medias fueron retransformadas.

⁶ Error estándar de la media (n=2).

CAPÍTULO V: Síntesis, implicancias y proyecciones

Los experimentos que conformaron el presente trabajo de tesis tuvieron como objetivo generar información acerca de las potencialidades de dos estrategias alternativas para mejorar la utilización de aguas de bebida con contenidos elevados de sales por los rumiantes, con el fin práctico de reducir los efectos negativos de estas sobre la productividad animal.

Con respecto a la primera estrategia evaluada, y en el marco de las condiciones experimentales del estudio realizado, los resultados obtenidos no proporcionaron evidencia que la exposición temprana al agua salada incremente la aceptación de los animales por este tipo de aguas. Incluso, se observaron algunas respuestas que podrían suprimir las potenciales ventajas adaptativas adquiridas como consecuencia de la exposición temprana al agua salada, tal como una reducción en el consumo de agua salada y de alimento. No obstante, la generalización de las conclusiones de esta parte del trabajo de tesis requiere de investigaciones que evalúen en detalle el impacto de la edad del animal cuando es expuesto al estímulo (agua salada), la duración de la exposición y la intensidad del estímulo (concentración y tipos de sales en el agua de bebida). Por ejemplo, si la intensidad del estímulo sobrepasa la capacidad de adaptación del animal, lo esperable es el desarrollo de aversión más que de aceptación y preferencia por el mismo. En el estudio realizado, una explicación probable de la respuesta de los animales expuestos a agua salada a edades tempranas (reducción del consumo de agua salada y de alimento) es que la intensidad del estímulo (concentración y tipo de sales del agua de bebida) durante la exposición haya sido lo suficientemente alta como para generar aversión por el mismo.

Por otra parte, la suplementación proteica mostró ser una estrategia nutricional válida para mejorar la utilización de forrajes de baja calidad en rumiantes consumiendo aguas con concentraciones elevadas de sales. En este sentido, la novedad revelada por los resultados obtenidos en esta parte del trabajo de tesis es que se requiere de niveles de suplementación mayores a los comúnmente recomendados cuando los animales consumen forrajes de baja

calidad y beben agua salada. No obstante, los mecanismos subyacentes a la interacción entre la suplementación proteica y el agua salada permanecen indeterminados y deberían ser objeto de futuras investigaciones. En lo que respecta a la implicancia práctica de los resultados obtenidos, la contribución es significativa ya que señala la necesidad de incrementar el nivel de suplementación proteica por encima del recomendado cuando el ganado consume forrajes de baja calidad y bebe agua salada. La práctica resultaría de fácil aplicación en los sistemas ganaderos, y permitiría aumentar la producción animal en ambientes con forrajes y agua de bebida de mala calidad.