

## Efecto de concentraciones elevadas de sales totales y sulfatos en agua de bebida sobre la degradabilidad ruminal *in vitro* de *Thinopyrum ponticum*

Effect of drinking water with high concentrations of total salts and sulphates on *in vitro* ruminal degradability of *Thinopyrum ponticum*

M L Coria<sup>a</sup>, J P Fay<sup>b\*</sup>, S B Cseh<sup>a, b</sup>, M A Brizuela<sup>a, c</sup>

<sup>a</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.

<sup>b</sup>Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. (INTA), Argentina.

<sup>c</sup>Comisión de Investigaciones Científicas, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

### SUMMARY

The objective of this study was to find out the effect of high concentrations of total salts (ST) and sulphates (Sulf) in drinking water on the degradability of tall wheatgrass (*Thinopyrum ponticum*). Six trials repeated at different moments using rumen fluid from a steer fed on either alfalfa hay (diet A) or alfalfa hay plus grass pasture (diet B) were performed. Drinking water was obtained from a watering place located in the same paddock of the pasture. Rumen fluid and tall wheatgrass were incubated at 39 °C in artificial saliva prepared with drinking water. Six treatments were evaluated in flasks fitted with graduated syringes. The flasks contained 60 ml of ruminal inoculum and 1 g of tall wheatgrass except in treatment 1 (T1). Treatments were T1: without forage; T2: control; T3: ST (3,000 mg/l); T4: ST (7,000 mg/l); T5: Sulf (1,500 mg/l) y T6: Sulf (7,000 mg/l). Salts used were: sulphates and chlorides of sodium, potassium, calcium and magnesium. To estimate the ruminal degradability of tall wheatgrass, gas production as a function of incubation time was evaluated by measuring the gas accumulated in the syringes during 50 h. The pH of the incubates of each treatment at the beginning and at the end of the trials was also recorded. Data were analysed using ANOVA and means were compared using Dunnett's test. Effects of block (diet), treatment, hour, and interactions of hour x block and hour x treatment on gas production were detected ( $P < 0.05$ ). In both diets, A and B, ST<sub>7,000</sub> was the treatment that most affected the degradative activity of rumen microorganisms, followed in diet A by Sulf<sub>7,000</sub> and in diet B by ST<sub>1,500</sub>. Some significant differences of pH were found between treatments, and between initial and final values. It was concluded that high concentrations of salts, particularly of ST, decrease the degradative activity of rumen microbes after 50 h of digestion.

*Palabras clave:* agua, sales, degradabilidad, rumen.

*Key words:* water, salts, degradability, rumen.

### INTRODUCCION

La relación entre la calidad del agua de bebida y la nutrición de vacas lecheras ha sido tratada detalladamente en una publicación reciente (Beede 2005).

Si bien es conocido el efecto negativo que el consumo de agua de mala calidad tiene sobre los bovinos (Solomon y col 1994, Bremer 2002<sup>1</sup>, Willms y col 2002), son escasos los trabajos que se han publicado para conocer el efecto de altas concentraciones de sales totales y sulfatos sobre la microbiota ruminal de esos animales (Alves de Olivera y col 1996).

Los minerales, además de desempeñar funciones muy importantes asociadas directamente con la salud y producción de los rumiantes, cumplen un rol fundamental en el metabolismo de los microorganismos ruminales y,

por ende, en la utilización del alimento. Con respecto a este metabolismo, los minerales intervienen en los dos procesos más importantes que se llevan a cabo en el retículo-rumen: la degradación de la fibra del forraje y la síntesis de biomasa microbiana.

Entre las sales contenidas en el agua, los sulfatos son más perjudiciales que los cloruros (Cl<sup>-</sup>). Así, se ha informado que elevadas concentraciones de sulfatos afectan negativamente a los microorganismos ruminales, disminuyendo su número y en consecuencia la actividad metabólica microbiana total (Block y col 1951, Loneragan y col 2001).

La reducción de sulfatos a sulfuros (S<sup>-2</sup>) en el rumen, para luego ser absorbidos, depende de un período previo de adaptación a la presencia de sulfatos en el medio, ya que sólo algunas especies de bacterias pueden reducirlos para posibilitar su utilización (Hungate 1966).

Durante este período, que puede durar dos semanas, se observa una reducción del consumo de agua y forraje. Por esta razón, altas concentraciones de sulfatos en el agua de bebida deprimen el consumo de agua y de alimento por parte del rumiante (Alves de Olivera y col

Aceptado: 09.01.2007.

\* Casilla 276, 7620 Balcarce, Argentina; pfay@balcarce.inta.gov.ar

<sup>1</sup> Bremer J. 2002. Better water makes more milk. <http://www.iowafarmertoday.com>. 2 pp.

1996). Además, como los  $S^{-2}$  de metales bivalentes son generalmente muy poco solubles, existe la posibilidad que el consumo de aguas con altos contenidos de sulfatos, produzca la formación de precipitados de calcio ( $Ca^{+2}$ ), cobre ( $Cu^{+2}$ ) o magnesio ( $Mg^{+2}$ ) en el rumen. Esto disminuiría la disponibilidad en solución de esos cationes esenciales para el metabolismo microbiano, lo cual llevaría finalmente a una disminución de la digestión del forraje. También a nivel ruminal los sulfatos pueden reaccionar con el molibdeno formando tiomolibdatos que se unen al  $Cu^{+2}$  reduciendo la absorción de este elemento hacia la sangre (Hidiroglou y McDowell 1990).

El objetivo de este trabajo fue conocer el efecto de elevadas concentraciones de sales totales y sulfatos en agua de bebida sobre la actividad degradativa de la microbiota ruminal sobre agropiro alargado. Como objetivo complementario se estudió si dicha actividad degradativa era afectada por la dieta del animal donante del licor ruminal.

## MATERIAL Y METODOS

### MATERIAL UTILIZADO

**Forraje.** Se utilizó agropiro alargado [*Thinopyrum ponticum* (Podp) Barw. y Dewey] obtenido de una pastura polifítica sembrada en un suelo Natracuol típico de la Estación Experimental Agropecuaria del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria situada en Balcarce, provincia de Buenos Aires ( $37^{\circ} 45'S$ ;  $58^{\circ} 17'O$ ). Se usó esta especie forrajera ya que, junto con *Festuca arundinacea* Schreb., son las especies más utilizadas en ambientes con restricciones edáficas (gradientes hidro y halomórficos) en los cuales se implementan sistemas ganaderos, predominantemente de cría. El forraje, en estado vegetativo, fue cosechado en sitios al azar. La biomasa se separó en sus fracciones viva y muerta. Se secó la fracción viva en estufa a  $60^{\circ}C$  hasta peso constante y se determinó el porcentaje de materia seca (MS). Luego, se la molió en un molino Wiley con malla de 1 mm.

**Estimación de la calidad del forraje.** Sobre una fracción de la MS obtenida se determinaron los porcentajes de: materia orgánica (MO) por calcinación en mufla a  $550^{\circ}C$  durante 4 h, degradabilidad de la MS (DMS) por producción de gas *in vitro* (Theodorou y col 1994), proteína bruta por combustión en oxígeno ultra puro (Horneck y Miller 1998) y fibra en detergente neutro (FDN) por el método de las bolsitas filtrantes (Komarek y Sirois 1993).

**Muestra de agua.** El agua utilizada (agua de bebida o agua base) provino de una aguada ubicada en el mismo potrero del cual se obtuvo el forraje. Este potrero es habitualmente utilizado por vacunos de distintas cate-

gorías y registra antecedentes de agua de buena calidad. Previo a su utilización en el ensayo, se realizaron las siguientes determinaciones para estimar su calidad: residuo seco (RS) por evaporación a  $100^{\circ}C$  hasta peso constante, carbonatos ( $CO_3^{-2}$ ) y bicarbonatos ( $HCO_3^{-}$ ) por titulación con ácido sulfúrico (indicadores: fenolftaleína y heliantina), sulfatos por turbidimetría (Cseh y col 1993),  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Na^{+}$  (sodio) y  $K^{+}$  (potasio) por espectrofotometría de absorción atómica en un equipo Perkin Elmer 5100 PC (Perkin Elmer 1982) y cloruros ( $Cl^{-}$ ) por colorimetría (Kit Laboratorio Merck). El agua se conservó en heladera a aproximadamente  $5^{\circ}C$ . Los valores obtenidos fueron: RS: 748 mg/l;  $CO_3^{-2}$ : 34 mg/l;  $HCO_3^{-}$ : 105 mg/l; Sulf: 10 mg/l;  $Ca^{+2}$ : 37 mg/l;  $Mg^{+2}$ : 3 mg/l;  $Na^{+}$ : 180 mg/l;  $K^{+}$ : 10 mg/l y  $Cl^{-}$ : 130 mg/l. En general, en aguas para vacas de cría se aceptan valores extremos de 1.500 mg/l de Sulf (Kober, 1993) y de 2.000 mg/l de  $Cl^{-}$  (Bonel y Gazi 1981).

**Inóculo ruminal.** Se obtuvo contenido ruminal de un novillo fistulado alimentado con dos dietas diferentes: heno de alfalfa de buena calidad (dieta A), y semanalmente heno de alfalfa en los 3 días inmediatamente anteriores a la obtención del licor ruminal y pastura con predominio de gramíneas en los 4 días previos (dieta B). El animal permaneció en cada régimen de alimentación al menos 3 semanas antes de la extracción del contenido ruminal. Este se filtró por 4 capas de gasa, recogiendo el filtrado (licor ruminal) en un termo previamente llevado a  $39^{\circ}C$ , el cual se llenó totalmente con licor para excluir el aire. Simultáneamente se preparó, utilizando el agua base, saliva artificial de McDougall (1948), la cual se mantuvo a  $39^{\circ}C$  y con burbujeo de  $CO_2$  hasta llegar a un pH de aproximadamente 6,9. Se realizó una segunda filtración del licor ruminal a través de 4 capas de lienzo de quesería y se transfirió el filtrado al recipiente que contenía la saliva artificial, en cantidad suficiente para lograr una proporción de licor ruminal: saliva de 1:100 (v/v). Finalmente, se trasvasaron 50 ml de esta mezcla a un balón con una válvula de Bunsen conteniendo 2 g de MS de agropiro, y se incubó en un baño de agua a  $39^{\circ}C$  para que los microorganismos se adaptaran al nuevo sustrato. Transcurridas 24 h de incubación, se filtró el contenido del balón a través de 4 capas de lienzo de quesería y se transfirió una alícuota del licor filtrado a saliva artificial burbujeada con  $CO_2$ , en una relación de 1 ml de licor por cada 100 ml de saliva. Esta mezcla constituyó el inóculo de microorganismos del rumen para los distintos tratamientos. En todo momento se mantuvo en los recipientes un purgado de la fase gaseosa con  $CO_2$ .

### TRATAMIENTOS

Se distribuyeron 60 ml de inóculo ruminal en balones de 100 ml. Los distintos tratamientos quedaron constituidos así:

- T1 : inóculo solo (sin forraje);  
 T2 : inóculo + 1 g de forraje = Control;  
 T3 : inóculo + 1 g de forraje + concentración normal de sales totales (3.000 mg/l) (NRC 1974) = ST<sub>3,000</sub>;  
 T4 : inóculo + 1 g de forraje + concentración de sales totales igual al límite superior aceptado como normal (7.000 mg/l) (NRC 1974) = ST<sub>7,000</sub>;  
 T5 : inóculo + 1 g de forraje + concentración de sulfatos igual al límite superior aceptado como normal (1.500 mg/l) (Kober 1993) = Sulf<sub>1,500</sub>;  
 T6 : inóculo + 1 g de forraje + concentración elevada de sulfatos (7.000 mg/l) = Sulf<sub>7,000</sub>.

Para obtener una concentración de 7.000 mg/l de sales totales en los 60 ml de inóculo se adicionó, a lo que ya contenía el agua base, lo siguiente: 634 mg/l de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 517 mg/l de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 662 mg/l de CaSO<sub>4</sub>, 750 mg/l de MgSO<sub>4</sub>, 588 mg/l de NaCl, 461 mg/l de KCl, 443 mg/l de CaCl<sub>2</sub> y 565 mg/l de MgCl<sub>2</sub>. Para el caso del tratamiento de Sulf (7.000 mg/l), se utilizaron las siguientes concentraciones de sulfatos: 1.217 mg/l de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 993 mg/l de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1.270 mg/l de CaSO<sub>4</sub> y 1.440 mg/l de MgSO<sub>4</sub>, más el contenido de sulfatos del agua base. Para probar los efectos de las concentraciones menores de sales totales y de sulfatos (3.000 mg/l y 1.500 mg/l, respectivamente) se usaron cantidades proporcionales a las ya indicadas, siempre teniendo en cuenta las concentraciones ya aportadas por el agua base.

El ensayo se repitió 3 veces en el tiempo para cada tipo de inóculo (provenientes de las dietas A o B) y, en cada fecha, los tratamientos se evaluaron por duplicado.

#### MEDICIONES

*Degradabilidad ruminal in vitro de agropiro.* Para evaluar la producción de gas en función del tiempo de incubación, se empleó la técnica descrita por Forsberg (1978). Para esto, los tapones de goma de los balones tenían acoplados jeringas graduadas. Una vez que se incorporaron en cada balón las sales y/o el forraje, según el tratamiento, se distribuyó el inóculo en cada uno de ellos bajo una atmósfera de CO<sub>2</sub>, manteniendo los balones a 39 °C. Las mediciones se hicieron a intervalos de 1 h durante 50 h en la parte inicial, media y final de un período total de 50 h. Una vez que las jeringas se llenaban de gas, se procedía a su vaciado y las lecturas subsiguientes se acumulaban sobre las anteriores.

*pH en los incubados.* Para medir el pH, cada tratamiento se incubó en balones por triplicado. En este caso, los balones estuvieron provistos de tapones con válvulas de Bunsen en vez de jeringas. La distribución del inóculo, la agitación y la incubación de los balones y el mantenimiento de la atmósfera de CO<sub>2</sub> se realizaron de la misma forma que para los balones de producción de gas. Se midió el pH de los incubados de cada tratamiento

al inicio y al final del ensayo mediante un electrodo combinado.

#### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Los datos fueron analizados mediante ANVA, con el programa MIXED de SAS (1995).

Los 6 ensayos realizados se agruparon en 2 bloques según el inóculo utilizado: 3 provenientes de la dieta A (bloque 1) y 3 provenientes de la dieta B (bloque 2).

Para los datos de producción de gas, la comparación de los tratamientos contra el control (T2) se hizo dentro de cada bloque y hora de medición usando el test de Dunnett. Por su parte los datos de pH fueron analizados mediante el test de Duncan, por bloque, para comparar los tratamientos al inicio (hora 0) y al final de la incubación (hora 50). En todos los casos el nivel de significancia utilizado fue de P < 0,05.

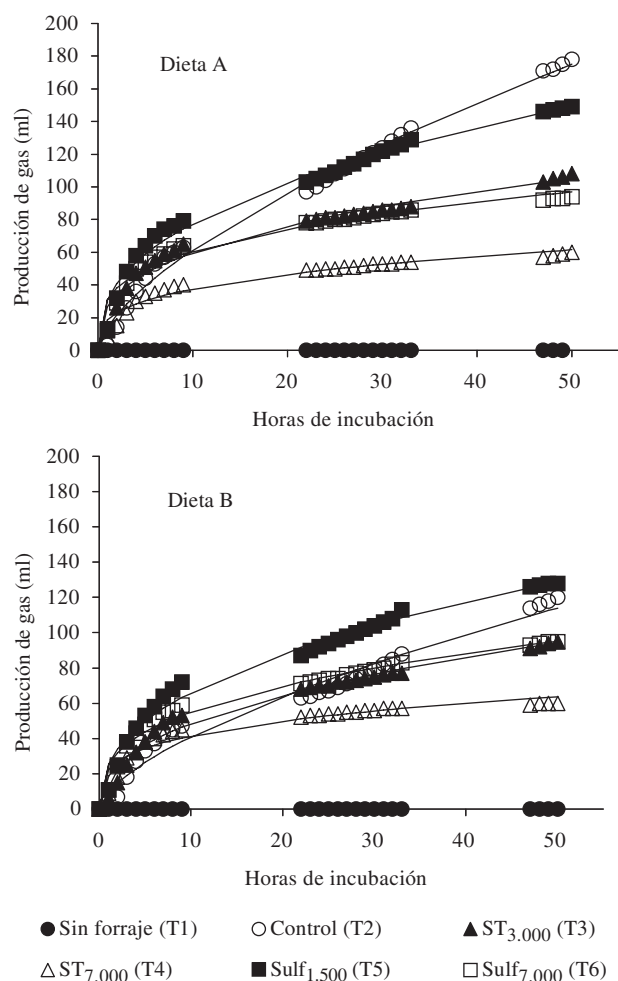
#### RESULTADOS Y DISCUSION

*Calidad del forraje utilizado.* El agropiro utilizado contenía 25% de MS. Con respecto a las otras determinaciones los resultados (base MS) fueron los siguientes: MO: 91,0%; DMS: 78,3%; PB: 17,4% y FDN: 50,3%.

*Producción de gas.* Hubo efectos de bloque (B), tratamiento (T) y hora (h), e interacciones entre h y B y entre h y T sobre la producción de gas *in vitro*. El efecto bloque evidenció el cambio de dieta del animal donante de licor ruminal, que produjo diferencias significativas entre los resultados de cada bloque. La dieta del rumiante es el factor que más influye sobre la composición relativa de la microbiota ruminal<sup>2</sup>. Al cambiarse la dieta basada únicamente en heno de alfalfa por una consistente en una pastura de gramíneas seguida por heno de alfalfa previo a la extracción del licor ruminal, se habrían producido cambios en las poblaciones de microorganismos del rumen que componen el licor ruminal. El período de 24 h de pre-adaptación de esas poblaciones al sustrato empleado *in vitro* (agropiro) no alcanzó para anular estas diferencias entre poblaciones, ya que en la dieta B hubo una menor producción de gas para todos los tratamientos evaluados.

El tratamiento con inóculo solo (T1) fue el único cuya producción de gas fue cero a lo largo de todo el período de incubación, lo cual se atribuye a la ausencia de sustrato en el medio de incubación (figura 1). Los resultados del test de Dunnett indicaron que, a la hora 50 y en ambas dietas, el control difirió de todos los tratamientos excepto de Sulf<sub>1,500</sub>. El diferente comportamiento de la dinámica de producción de gas del control y Sulf<sub>1,500</sub> según

<sup>2</sup> McAllister 2000. Learning more about rumen bugs: genetic and environmental factors affecting rumen bugs. [http://www1.agric.gov.ab.ca/\\$Department/deptdocs.nsf/all/beef4008](http://www1.agric.gov.ab.ca/$Department/deptdocs.nsf/all/beef4008)



**Figura 1.** Producción de gas acumulada medida (símbolos) y ajustada (líneas continuas) durante la incubación *in vitro* a 39 °C de agropirol alargado (*Thinopyrum ponticum*) en medios adicionados con inóculos ruminales provenientes de un novillo alimentado con dos dietas diferentes (A y B). Los medios de incubación *in vitro* contenían diferentes concentraciones de sales totales (ST) o sulfatos (Sulf) como tratamientos (T1 a T6).

Measured (symbols) and adjusted (solid lines) accumulative production of gas during the *in vitro* incubation of tall wheatgrass (*Thinopyrum ponticum*) at 39 °C in media added with ruminal inocula from a steer fed on two different diets (A and B). Incubation media contained different concentrations of total salts (ST) or sulphates (Sulf) as treatments (T1 to T6).

la dieta considerada (figura 1), podría explicarse por el tipo de dieta. La mayor diversidad de microorganismos que habría en el licor ruminal de la dieta B permitiría un mejor aprovechamiento de los sulfatos agregados en Sulf<sub>1,500</sub>. Dentro de una misma dieta, la capacidad de las poblaciones microbianas para producir gas a partir de la reducción de los sulfatos estaría limitada en el T2 por la menor concentración de sulfatos en ese medio de incubación con respecto a la concentración presente en Sulf<sub>1,500</sub>. En los demás tratamientos, las diferencias entre dietas no fueron tan importantes (figura 1). Esto po-

dría deberse a que los microorganismos ruminales estarían más afectados por las diferentes concentraciones de sales agregadas que por los diferentes inóculos resultantes de las distintas dietas del animal fistulado.

Si bien el contenido de ST de ST<sub>3,000</sub> estaba dentro de los valores normales para el consumo animal, en varios horarios se observó una menor producción de gas con respecto al control (figura 1). Por otra parte, la producción de gas de ST<sub>7,000</sub> fue la más baja de todos los tratamientos evaluados. Esto podría tener relación con el hecho de que concentraciones de NaCl mayores a 200 mM deprimen la digestibilidad ruminal *in vitro* de la MS de agropirol (Fay y Ovejero 1986).

La producción de gas observada en este estudio (y) puede ser descrita por la ecuación:  $y = a x^b$ , donde x representa la hora de medición, la constante a el gas acumulado (ml) a la hora 1 y el exponente b la tasa de producción de gas (ml.h<sup>-1</sup>). En el cuadro 1 se presentan los valores de ambas constantes (a y b) y el ajuste logrado (r<sup>2</sup>) para cada tratamiento en cada dieta. En ambas dietas, el control (T2) presentó menor producción inicial de gas (hora 1), pero la mayor tasa de producción de gas. Por el contrario, las menores tasas se registraron a las mayores concentraciones tanto de sulfatos como de sales totales (figura 1 y cuadro 1).

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo, se pudo comprobar el efecto negativo que tiene un agua

**Cuadro 1:** Valores de las constantes a y b y del ajuste (r<sup>2</sup>) de la ecuación ( $y = ax^b$ ) para describir la producción de gas (y), durante la digestión ruminal *in vitro* de agropirol alargado (*Thinopyrum ponticum*) con los distintos inóculos ruminales (dietas del animal donante) y tratamientos, x: hora de medición, a: gas acumulado a la h1 (ml), y b: tasa de producción de gas (ml.h<sup>-1</sup>).

Values of the a and b constants and of the adjustment (r<sup>2</sup>) for the equation ( $y=ax^b$ ) describing the production of gas (y) during the *in vitro* ruminal digestion of tall wheatgrass (*Thinopyrum ponticum*) with the different rumen inocula (donor animal diets) and treatments, x: hour of measurement; a: gas accumulated at hour 1 (ml); b: rate of gas production (ml.h<sup>-1</sup>).

	Tratamiento	Constantes		r <sup>2</sup>
		a	b	
Dieta A	Control	13,8	0,6	0,99
	ST <sub>3,000</sub>	26,7	0,3	0,97
	ST <sub>7,000</sub>	18,6	0,3	0,96
	Sulf <sub>1,500</sub>	30,7	0,4	0,98
	Sulf <sub>7,000</sub>	31,0	0,3	0,96
Dieta B	Control	9,5	0,6	0,97
	ST <sub>3,000</sub>	18,8	0,4	0,97
	ST <sub>7,000</sub>	22,4	0,3	0,94
	Sulf <sub>1,500</sub>	25,5	0,4	0,98
	Sulf <sub>7,000</sub>	25,3	0,3	0,97



de bebida con elevadas concentraciones de sales totales (T4) y de sulfatos (T6) sobre la degradabilidad ruminal *in vitro* de agropiro. El-Shazly y Hungate (1965) sugirieron que la producción de gas es un indicador de la tasa de fermentación ruminal y estaría relacionada con el tamaño de la comunidad microbiana ruminal. Por lo tanto, en los tratamientos de ST<sub>7.000</sub> y Sulf<sub>7.000</sub> los microorganismos ruminales viables podrían encontrarse en menor número que en el control (T2) y que en los tratamientos con concentraciones normales de sales totales (T3) y de sulfatos (T5), lo cual explicaría las menores producciones de gas en ST<sub>7.000</sub> y Sulf<sub>7.000</sub>. También la menor producción de gas podría deberse a un efecto inhibitorio de sales totales y sulfatos sobre determinadas actividades metabólicas microbianas, aunque el número total de microbios viables permanezca inalterado. En cualquier caso, el consumo de aguas con altos contenidos de sales totales y/o sulfatos tendría un efecto adverso sobre el desempeño productivo del rumiante. Un agua de buena calidad puede beneficiar al ganado de modo similar al que lo haría un forraje de buena calidad (Boyles y col 1988). A la inversa, entre los factores determinantes para considerar un agua como de mala calidad desde el punto de vista químico, los altos contenidos de sales totales y sulfatos son los que tienen efectos más perjudiciales.

Un aspecto importante observado durante los ensayos fue la formación de grumos en los tratamientos con elevadas concentraciones de sales totales y sulfatos, los cuales no desaparecían fácilmente con la agitación manual de los balones. Estos grumos eran aglomerados de partículas de forraje seco rodeados de una película blanquecina de sales y líquido. Es lógico suponer que el ataque de los microorganismos del rumen al interior de esos grumos fue prácticamente imposible por la carencia de una fase líquida que permitiera el desplazamiento, la multiplicación, y la actividad degradativa de los microbios, lo que finalmente habría llevado a una disminución de la digestibilidad de la MS y de la MO (Fay y col 1989). Esto podría constituir otra razón por la cual la producción de gas en ST<sub>7.000</sub> y Sulf<sub>7.000</sub> fue menor y tendió a llegar a una meseta antes que en los otros tratamientos.

Durante el llenado de los balones con inóculo ruminal, en los tratamientos 3 a 6 se observó la formación inmediata de espuma, lo cual evidenciaría una más rápida liberación de gas al comienzo de la incubación en estos tratamientos que en el control. Esto puede asociarse con reacciones químicas entre las sales agregadas al medio y las contenidas en la saliva artificial, como por ejemplo, la descomposición de NaHCO<sub>3</sub> con liberación de CO<sub>2</sub>. Otra posible explicación sería la rápida utilización inicial de los hidratos de carbono fácilmente fermentecibles del forraje por parte de los microorganismos del rumen contenidos en el inóculo, la cual estaría acompañada por una rápida producción de gases fermentativos.

Con respecto a los agregados de sales totales y sulfatos en concentraciones (3.000 y 1.500 mg/l, respectivamen-

te) consideradas aptas para el consumo animal, éstos difirieron en su comportamiento, especialmente en la dieta A. Mientras Sulf<sub>1.500</sub> presentó una producción de gas superior a la del control, hasta la hora 9, ST<sub>3.000</sub> redujo marcadamente la degradabilidad ruminal *in vitro* en horarios posteriores, siendo desde la hora 25 hasta el final del período de incubación significativamente menor a la del control. Esta observación experimental ameritaría un estudio más exhaustivo del efecto de concentraciones de sales totales y sulfatos hasta ahora aceptadas como inocuas para el consumo animal, sobre la actividad degradativa de la microbiota ruminal bovina.

*pH.* Se detectaron interacciones entre tratamientos y entre los estados inicial (hora 1) y final (hora 50), respectivamente. En ambas dietas el pH inicial de ST<sub>7.000</sub> fue menor al de los demás tratamientos excepto al de ST<sub>3.000</sub> (cuadro 2). En la dieta B, el pH de ST<sub>3.000</sub> fue menor al del tratamiento sin forraje (T1). Para el caso del pH final, y en ambos bloques, el incubado sin forraje presentó valores de pH mayores a los valores de los demás tratamientos. Estas diferencias se deberían a que en T1 no había forraje en el medio de incubación y por lo tanto no hubo digestión; en cambio en los demás tratamientos, al haber fermentación del forraje, se habrían liberado al medio de incubación ácidos grasos volátiles que explicarían la disminución del pH. El aumento de pH observado en T1 pudo estar provocado por lisis celular de microorganismos privados de nutrientes, lo cual habría hecho que el medio se tornara más básico por liberación de NH<sub>3</sub> proveniente de la desaminación de proteínas microbianas liberadas al medio en el transcurso de la incubación.

Con respecto a las diferencias entre los momentos de medición de pH, en la dieta A el pH inicial fue mayor que el pH final en el control y en Sulf<sub>1.500</sub>; en la dieta B se observaron diferencias en igual sentido en Sulf<sub>1.500</sub> y en Sulf<sub>7.000</sub> (cuadro 2).

Weimer (1992) y Kotarski y col (1992) señalaron que el pH del medio modifica el tipo de poblaciones microbianas presentes en el rumen. En este trabajo, si bien hubo diferencias entre el pH inicial y final para algunos tratamientos, estas diferencias no fueron tan amplias como las requeridas para producir cambios importantes en las poblaciones microbianas, en incubaciones de 50 h.

En este experimento, la influencia del pH sobre la degradabilidad *in vitro* de agropiro no sería significativa, ya que el pH se mantuvo siempre en valores de 6,5 a 6,9 (cuadro 2), o sea claramente dentro del rango adecuado para el desarrollo de una comunidad de microorganismos del rumen como la del licor ruminal utilizado en este trabajo. Según Clarke (1977) en el rumen de ovinos y bovinos en pastoreo pueden encontrarse valores de pH comprendidos entre 5,7 y 7,3. Así, aunque hubo diferentes períodos de adaptación a los distintos tratamientos, lo cual es evidenciado por las distintas

**Cuadro 2:** Valores promedios de pH iniciales y finales de los incubados ruminales de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) con los diferentes inóculos (dietas del animal donante) y tratamientos.

Means of initial and final pH values of the ruminal incubates of tall wheatgrass (*Thinopyrum ponticum*) with the different inocula (donor animal diets) and treatments.

pH		Tratamientos					
		Sin forraje	Control	ST <sub>3.000</sub>	ST <sub>7.000</sub>	Sulf <sub>1.500</sub>	Sulf <sub>7.000</sub>
Dieta A	Inicial	6,9 aA	6,9 aA	6,8 aAB	6,6 aB	6,9 aA	6,9 aA
	Final	7,4 aA	6,5 bB	6,6 aB	6,5 aB	6,5 bB	6,7 aB
Dieta B	Inicial	7,0 aA	6,9 aAB	6,7 aBC	6,6 aC	6,9 aAB	6,9 aAB
	Final	7,2 aA	6,6 aB	6,7 aB	6,6 aB	6,8 bB	6,8 bB

Sin: incubación sin forraje.

Letras minúsculas diferentes en una misma columna y en una misma dieta indican diferencias entre el pH inicial y final para un tratamiento (Test de Duncan, P < 0,05).

Letras mayúsculas diferentes en una misma fila indican diferencias entre los pH de los distintos tratamientos (Test de Duncan, P < 0,05).

fases de latencia y/o las pendientes de las curvas de producción de gas obtenidas (cuadro 1), este hecho debería atribuirse más bien a las diferentes composiciones químicas de los medios que a las diferencias de pH entre los mismos.

Se concluye que elevadas concentraciones de sales, particularmente de sales totales, en agua de bebida deprimen la actividad degradativa de los microorganismos ruminales al cabo de 50 h de digestión ruminal *in vitro*. Esto es importante ya que aguas de bebida con elevado contenido de sales y/o sulfatos no solamente disminuirían la digestibilidad del forraje, sino que podrían también afectar negativamente el consumo, la sanidad y la producción del ganado bovino.

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue conocer el efecto de elevadas concentraciones de sales totales (ST) y sulfatos (Sulf) en agua de bebida sobre la degradabilidad ruminal de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*). Se realizaron 6 ensayos repetidos en el tiempo utilizando licor ruminal de un novillo, cuya dieta consistió en heno de alfalfa (dieta A) o heno de alfalfa y pastura de gramíneas (dieta B). El agua de bebida se obtuvo de una aguada situada en el mismo potrero que el agropiro. El licor ruminal y el agropiro se incubaron a 39 °C en saliva artificial preparada con agua de bebida. Se evaluaron 6 tratamientos en balones con jeringas graduadas acopladas. Los balones contenían 60 ml de inóculo ruminal y 1 g de agropiro excepto en el tratamiento T1. Los tratamientos fueron T1: sin forraje; T2: control; T3: ST (3.000 mg/l); T4: ST (7.000 mg/l); T5: Sulf (1.500 mg/l) y T6: Sulf (7.000 mg/l).

Las sales utilizadas fueron: sulfatos y cloruros de sodio, potasio, calcio y magnesio. Para estimar la degradabilidad ruminal del agropiro se evaluó la producción de gas en función del tiempo de incubación, midiéndose el gas que se acumulaba en las jeringas durante 50 h. También se registró el pH de los incubados de cada tratamiento al inicio y al final de los ensayos. Los datos fueron analizados mediante ANVA y comparados por test de Dunnett. Hubo efectos de bloque, tratamiento, hora, e interacciones hora x bloque y hora x tratamiento

sobre la producción de gas (p < 0,05). Tanto en la dieta A como en la dieta B, ST<sub>7.000</sub> fue el tratamiento que más afectó la actividad degradativa de los microorganismos del rumen, seguido en la dieta A por Sulf<sub>7.000</sub> y en la dieta B por ST<sub>1.500</sub>. Se encontraron algunas diferencias significativas de pH entre tratamientos, y entre valores iniciales y finales. Se concluye que elevadas concentraciones de sales, particularmente de ST, disminuyen la actividad degradativa de los microorganismos ruminales al cabo de 50 h de digestión.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la asistencia técnica de Mónica Drake y María Yarrar y los análisis estadísticos realizados por Adriana Cano.

## REFERENCIAS

- Alves de Olivera 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 slaties in sheep receiving a semi-synthetic, thiamine-free diet. *Reprod Nutr Dev* 36, 31-42.
- Beede D K. 2005. Assessment of water quality and nutrition for dairy cattle. *Proc. Mid-south Ruminant Nutrition Conf*, Pp 1-19.
- Block R J, J A Stekol, J K Loosli. 1951. Synthesis of sulfur amino acids from inorganic sulfates by ruminants II. Synthesis of cystine and methionine from sodium sulfate by the goat and by the microorganisms of the rumen of the ewe. *Arch Biochem Biophys* 33, 353-363.
- Bonel J A, A Gazi. 1981. Método para determinar la calidad del agua para bebida de bovinos y recomendaciones para el ganadero. *INTA. Hoja informativa 76. Estación Experimental Regional Agropecuaria de Marcos Juárez, Córdoba, Argentina.*
- Boyles S, K Wohlgenuth, G Fisher, D Lundstrom, I Johnson. 1988. *Livestock and water*. Extension Service Bulletin AS-954. North Dakota State University, Fargo, ND, USA.
- Clarke R T J. 1977. Methods for studying gut microbes. In: Clarke R T J, Bauchop T (eds). *Microbial Ecology of the Gut*. Academic Press, London, UK, Pp 1-33.
- Cseh S B, M Ridao, M Yarrar. 1993. Determinación de sulfatos en agua de bebida. *IX Reunión Anual Asociación Argentina Veterinarios Laboratorios Diagnóstico*. Tandil, Argentina.

- El-Shazly K, R E Hungate. 1965. Fermentation capacity as a measure of net growth of rumen microorganisms. *Appl Microbiol* 13, 62-69.
- Fay J P, 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.
- Fay J P, S Chifflet de Verde, F M A Ovejero. 1989. Tratamientos que afectan la digestibilidad *in vitro* de forrajes de baja calidad. *Rev Arg Prod Anim* 9, 337-345.
- Forsberg C W. 1978. Effects of heavy metals and other trace elements on the fermentative activity of the rumen microflora and growth of functionally important rumen bacteria. *Can J Microbiol* 24, 298-306.
- Hidiroglou M, L R Mc Dowell. 1990. Copper metabolism and status in cattle. *XVI World Buiatrics Congress*. Salvador, Bahía, Brazil. Schering-Plough Animal Health, USA, Pp 19-30.
- Horneck D A, R O Miller. 1998. Determination of total nitrogen in plant tissue. In: Kalra, Y P (ed). *Handbook of Reference Methods for Plant Analysis*. Soil and Plant Analysis Council, Inc., CRC Press, Washington DC, USA, Pp 75-83.
- Hungate R E. 1966. *The Rumen and its Microbes*. Academic Press. New York, USA.
- Kober J A. 1993. Water: The most limiting nutrient. *Agric Pract* 14, 39-42.
- Komarek A R, P Sirois. 1993. An improved filtering technique for the analysis of neutral detergent fiber and acid detergent fiber utilizing the Filter Bag Technique. *J Anim Sci* 71, 824-829.
- Kotarski S F, R D Waniska, K K Thurn. 1992. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. *J Nutr* 122, 178-190.
- Loneragan G H, J J Wagner, D H Gould, F B Garry, M A Thoren. 2001. Effects of water sulfate concentrations on performance, water intake, and carcass characteristics of feedlot steers. *J Anim Sci* 79, 2941-2948.
- Mc Dougall, E I. 1948. The composition and output of sheep's saliva. *Biochem J* 43, 99-109.
- NRC. 1974. *Nutrient and toxic substances in water for livestock and poultry*. National Academy Press, Washington DC, USA.
- Perkin Elmer Corp. 1982. *Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry*. Connecticut, USA.
- SAS. 1995. *SAS/STAT. User's Guide: Statistics (Release 6.03)*, SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA.
- Solomon R, J Miron, D Ben-Guedalia, Z Zomberg. 1994. Performance of high producing dairy cows offered drinking water of high and low salinity in the Avara Desert. *J Dairy Sci* 78, 620-624.
- Theodorou M K, B A Williams, M S Dhanoa, A B Mcallan, J France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine fermentation kinetics of ruminants feeds. *Anim Feed Sci Technol* 48, 185-197.
- Weimer, P.J. 1992. Cellulose degradation by ruminal microorganisms. *Crit Rev Biotechnol* 12, 189-223.
- Willms W D, O R Kenzie, T A McAllister, D Colwell, D Veira, J F Wilmshurst, T Entz, M E Olson. 2002. Effect of water quality on cattle performance. *J Range Manage* 55, 452-460.

