

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

Instituto de Ciencias Agrícolas

Instituto en Investigaciones en Ciencias Veterinarias



"Efecto del reemplazo de heno de alfalfa por ensilaje de maíz sobre producción y composición de la leche para vacas Holstein en producción"

T E S I S

QUE COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

PRESENTA

OLIVA FABIOLA GUEVARA FLORENTINO

DIRECTORES DE TESIS

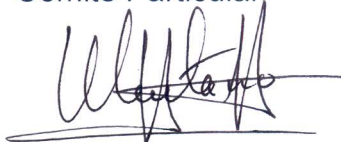
DR. MARTÍN FRANCISCO MONTAÑO GÓMEZ

DR. JAIME SALINAS CHAVIRA

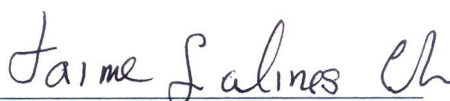
La presente tesis “**Efecto del reemplazo de heno de alfalfa por ensilaje de maíz sobre producción y composición de la leche para vacas Holstein en producción**” realizada por el **C. Oliva Fabiola Guevara Florentino**, dirigido por el **Dr. Martín Francisco Montaña Gómez**, ha sido evaluada y aprobada por el Comité Particular abajo indicado, como requisito parcial para obtener el grado de:

Doctor en Ciencias Agropecuarias

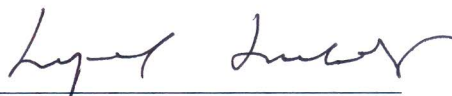
Comité Particular



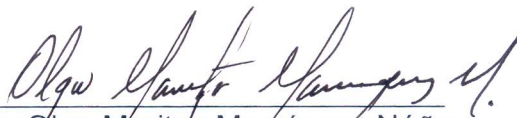
Dr. Martín Francisco Montaña Gómez
Director de Tesis



Dr. Jaime Salinas Chavira
Co-Director de Tesis



Dr. Miguel Mellado Bosque
Sinodal



Dra. Olga Maritza Manríquez Núñez
Sinodal



Dr. Víctor Manuel González Vizcarra
Sinodal

Contenido

LISTA DE TABLAS.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vi
INTRODUCCIÓN.....	9
REVISION DE LITERATURA.....	12
El proceso de ensilaje.....	13
Efecto de la suplementación de ensilaje sobre producción de leche.....	15
Efecto de la suplementación de ensilaje sobre porcentaje de grasa.....	16
Efecto de la suplementación de ensilaje sobre porcentaje de proteína.....	18
Efecto de la suplementación de ensilaje sobre porcentaje de lactosa.....	19
Efecto de la suplementación de ensilaje sobre porcentaje de sólidos no grasos.....	20
Efecto de la suplementación de ensilaje sobre porcentaje de nitrógeno ureico en leche	20
Efecto de la suplementación de ensilaje sobre porcentaje de nitrógeno ureico en sangre	21
MATERIALES Y METODOS.....	25
RESULTADOS Y DISCUSION.....	27
CONCLUSIONES.....	33
LITERATURA CITADA.....	44

Tablas

Tabla 1. Dietas experimentales	26
Tabla 2. Efecto de los tratamientos sobre las variables de respuesta.	27

AGRADECIMIENTOS

A Dios y a la Virgen María por guiarme y permitirme culminar esta etapa.

A mis padres, por su amor, ternura y apoyo incondicional.

Al mi tutor, Doctor Martin Francisco Montaña Gómez, por su paciencia, por compartir sus conocimientos y por sus sabios consejos que me ayudaron a crecer como profesional y como persona.

A la Doctora Olga Maritza Manríquez Núñez, Doctor Jaime Salinas y Doctor Víctor González Vizcarra por el importante aporte y participación que me brindaron en la realización de este proyecto.

Al comité, por compartir sus conocimientos y por el apoyo brindado.

A mis compañeros y amigos de alimentadas, pesadas, estudios, por ser pilar fundamental en la realización de este proyecto.

Al personal del establo lechero y metabólico del Instituto de Ciencias Veterinarias por su apoyo durante este proyecto.

Al Instituto de Investigaciones de Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California por permitirme el uso de sus instalaciones.

A CONACYT, por brindarme la oportunidad de estudiar en México y adquirir nuevos conocimientos para poder ponerlos en práctica.

A Fundación PRODUCE-Baja California por el apoyo recibido para la realización del proyecto de investigación.

DEDICATORIA

A Dios y a la Virgen María Auxiliadora por llenar mi camino de bendiciones y ayudarme en todo momento a salir adelante.

A mis padres, Salome Guevara y Oliva Florentino por darme la vida y seguirme guiando de su mano con amor, por ser un pilar fundamental en lo que ahora soy.

A mi hermano, mis hermanas, mis sobrinas y sobrinos, por darme la felicidad y apoyo en todo momento, por impulsarme a ser mejor cada.

A mi abuela Ulpi, por cada abrazo lleno de amor y a mis abuelos que desde el cielo me cuidan.

A cada una de las personas que he compartido en México, porque más que amigos han sido hermanos, tíos, cómplices, por abrirme las puertas de sus hogares y sobre todo por dejarme entrar en sus corazones, muchas gracias.

RESUMEN: El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficiencia de tres niveles de inclusión de ensilaje de maíz en sustitución de heno de alfalfa en dieta para vacas Holstein en producción. Se utilizaron 12 vacas Holstein en su primer tercio de lactación. Las unidades experimentales se encontraban entre su primera y segunda lactancia. Cada unidad experimental se asignó a una corraleta con comedero individual y bebedero automático compartido para dos unidades experimentales. Los tres tratamientos consistieron en el nivel de sustitución del heno de alfalfa por ensilaje de maíz en la dieta: T1 =CS0% (Control); T2 =CS30%; T3 =CS60%. El porcentaje de ensilaje de maíz representa el porcentaje total de ensilaje de maíz que se incluyó en sustitución del heno de alfalfa en base a materia seca (BMS). El experimento tuvo una duración de 14 días de adaptación a los tratamientos y 56 días de pesado de leche y toma de muestras. En la producción de leche fue similar entre T2 y T3 (28.64 y 26.14 kg/d), pero diferente para T1, donde se observó una mayor producción (36.32 kg/d). El porcentaje de grasa fue similar entre T1 y T2 (3.70 y 3.55%), pero diferente para T3, donde se observó un mayor porcentaje (4.19). El porcentaje de proteína fue similar entre T1 y T3 (3.09 y 3.07%), pero diferente para T2, donde se observó una menor producción (3.00%). No se observó diferencia significativa para los porcentajes de sólidos no grasos y lactosa en leche. Nitrógeno ureico en leche (mg/dL) fue similar para el T1 y T3. El T1 y T2 mostraron comportamientos similares en la calidad de la leche para las variables de proteína, sólidos totales, sólidos, nitrógeno ureico en leche y en sangre, sin embargo, el T1 obtuvo mejores valores para la producción de leche, aunque el porcentaje de grasa se vio afectando, siendo mejor en el T3. El T2 es el que se vio más afectado en todas sus variables para la calidad de la leche.

Palabras claves: heno de alfalfa, ensilaje de maíz, producción, calidad de leche.

ABSTRACT: The objective of this study was determine the effects of replacing alfalfa hay with corn silage in diet for Holstein cows in milk production. Twelve Holstein cows in their first third period of lactation was used. Each experimental unit was a corral with individual feeding space and automatic water dispenser shared for two experimental units. The three treatments consisted in the level of alfalfa hay replacing corn silage in diet: T1=CS0% (control); T2=CS30%; T3=CS60%. The percentage of the corn silage represents the total amount of the corn silage that was included for replacing the alfalfa hay based on dry matter. The experiment lasted 14 days for adaptation in treatments and 56 days for milk weighting and sampling. In milk production T2 and T3 was similar (28.64 and 26.14 kg/d), but different for T1, where an increased production was observed (36.32 kg/d). The fat milk percentage was similar between T1 and T2 (3.70 and 3.55%), but different for T3, where the percentage was higher (4.19). The protein percentage was similar between T1 and T3 (3.09 and 3.07%), but different in T1, where production was less (3.00%). There was no significant difference for percentages in milk lactose and non fat solids. Milk urea nitrogen (mg/dL) was similar in T1 and T3. The T1 and T2 showed similar behaviors in milk quality for variables in protein, total solids, solids, urea nitrogen and blood, however, T1 obtained better values in milk production, although the fat percentage was affected, being better in T3. T2 was the most affected in all it variables for milk quality.

Key words: alfalfa hay, corn silage, production, dairy quality.

INTRODUCCIÓN

En la alimentación de bovinos las fuentes proteicas son importantes para cubrir los requerimientos de mantenimiento y producción, los altos costos de importación han impulsado la exploración de fuentes alternativas de proteína y energía localmente disponible y a bajo costo, donde no sea afectada la producción y calidad en la leche en los hatos ganaderos. El maíz es de los cultivos de preferencia en los sistemas de producción bovina, tanto su grano como ensilaje, el cual proporciona ventajas de almacenamiento a largo plazo y utilizarlo en temporadas donde se eleva el costo de la alfalfa, debido a la escasez de materia prima para alimentación del ganado. Por otro lado, los costos de alimentación en la producción lechera representa el renglón más alto dentro de la inversión total, la disminución de costos contribuye a enfrentar la competitividad que representa la apertura comercial y la globalización.

Los forrajes tradicionalmente han sido los principales ingredientes de las dietas ofrecidas a vacas lecheras. La calidad de los mismos tiene influencia en el consumo de energía, su disponibilidad de mantenimiento, producción de leche y salud de los animales (Castro et al., 2010).

La alfalfa (*Medicago sativa*) es una planta de crecimiento erecto, se emplean en producción animal. El momento óptimo para su uso está dado, fundamentalmente, por el balance entre la cantidad de carbohidratos acumulados en la raíz y el estado de desarrollo alcanzado al momento del corte, lo cual también permite compatibilizar calidad del forraje obtenido y duración de la pradera (Soto y Jahn, 1993).

El ensilaje de maíz es un forraje palatable, que en adición con fibra efectiva y almidón, humedad de la dieta, pueden mejorar la calidad del ensilaje (Leonardi et al., 2005) y afectar el contenido de materia seca y el consumo del alimento (Ruppert et al., 2003; Kleinschmit et al., 2007). La alfalfa y el ensilaje

de maíz son fuente de fibra, pero afectan de diferente manera la fermentación ruminal, no solo por sus diferentes contenidos de humedad y proteína, sino también a sus diferente bioenergética (Kowsar et al., 2008).

Las principales fuentes de forrajes ofrecidos a los hatos en Estados Unidos de América son alfalfa y ensilaje de maíz. Estos forrajes se complementan ya que uno ofrece principalmente el nitrógeno disponible y el otro la energía fermentable requerida, entre otros fines, para la síntesis de proteína microbiana. La alfalfa es baja en fibra y alta en proteína cruda, la cual se degrada rápida y extensivamente en el rumen. Por otra parte, el ensilaje de maíz es rico en almidón, fuente de energía fermentable para los microorganismos del rumen (Holt et al., 2013). Las fuentes proteicas se caracterizan por tener elevados costos por lo que la mejoría de ganancias podría acreditarse a una reducción de éstas, a la vez reducir la cantidad de componentes de la leche como nitrógeno ureico en leche que causa problemas en el procesamiento de lácteos (Acosta et al., 2005). Olmos Colmenero y Broderick (2006) reportan que dietas que contienen 16.5% de proteína cruda, es suficiente para una buena producción de leche y proteína en leche para lecheras con un mínimo de excreción de nitrógeno comparado con dietas con alta concentración de proteína cruda. Cuando la dieta incluye sebo y semillas oleaginosas el reemplazo de 25 a 50% de ensilaje de maíz con heno de alfalfa ha ayudado a la disminución de la grasa en leche y digestibilidad de la fibra (Smith et al., 1993).

La nutrición animal brinda un medio de hacer cambios rápidos en la composición de la leche, pero la relación entre los componentes del alimento y composición de la leche es compleja. Los mayores cambios se pueden provocar en la concentración de grasa de la leche. Particularmente factores dietéticos importantes son la cantidad de fibra, relación de forraje: concentrado, la composición de carbohidratos, lípidos, consumo y frecuencia de las comidas (Sutton, 1989). Se define por calidad de la leche, a las características nutricionales y microbiológicas; las características nutricionales se definen

como el porcentaje de los diferentes constituyentes químicos como: proteínas, grasa, lactosa, minerales, vitaminas, sólidos no grasos y sólidos totales entre otros y la calidad microbiológica se refiere a la concentración de las bacterias de la leche, presencia de microorganismos patógenos, de residuos de antibióticos y medicamentos (Calderón y col. 2006). Es por ello, el objetivo de este trabajo es evaluar diferentes niveles de inclusión de ensilaje de maíz reemplazando el heno de alfalfa sobre la producción y calidad de la leche en vacas Holstein en producción.

REVISIÓN DE LITERATURA

Los productores y nutricionistas indican que en la última década, se ha aumentado su uso de ensilaje de maíz como fuente de forraje en las raciones para ganado lechero. Este ha sido influenciado por el alto precio de los alimentos, especialmente de granos de maíz, y el alto contenido de energía del ensilaje de maíz. Niveles de alimentación de forraje en 55 a 60% de materia seca (MS) en la dieta para ganado lechero es cada vez más común (Holt et al., 2013).

El maíz (*Zea mays*) es el cultivo más empleado como fuente de forraje en los sistemas de producción bovina mediante su conservación (ensilaje), debido a un alto rendimiento de biomasa área de 35-95 t.ha⁻¹, alto contenido de carbohidratos (Méndez 2000), los cuales favorecen el proceso fermentativo.

El ensilaje de maíz tiene un valor alto en almidón y una buena fuente de carbohidratos fermentables rumen (Brito y Broderick, 2006; Leonardi et al., 2005). Sin embargo, cuando el ensilaje de maíz es el forraje principal en las dietas lácteas, pueden ocurrir limitaciones nutricionales, lo que podría conducir a un aumento de la cojera en vacas lecheras debido a los altos niveles de carbohidratos fermentables y bajo contenido de fibra (Cook, 2003) por lo tanto, la alfalfa y ensilaje de maíz son forrajes complementarios (Brito y Broderick, 2006) Alfalfa y ensilaje de maíz son ambas fuentes de fibra, pero afectan fermentación en el rumen de manera diferente por sus diferentes contenidos de proteína y de humedad (Beever, 1993).

El forraje de alfalfa, es un componente importante de las dietas suministradas a vacas lecheras. La alfalfa se ha convertido en un forraje popular debido a su alto rendimiento, contenido de materia seca y proteína cruda. Las vacas pueden consumir grandes cantidades de alfalfa y producir más leche (Nelson y Satter, 1990).

El ensilado es uno de los métodos de conservación de nutrientes, facilitando la recolección del forraje (Cañete y Sancha, 1998). El objetivo en la

preparación de ensilado consiste en crear un ambiente anaeróbico para la fermentación de azúcares, transformándose en ácidos que reducen el pH y conservan el forraje (Chamberlain y Wilkinson, 2002). El ensilaje de maíz se ha convertido en la fuente de forraje predominante para las vacas lecheras debido a una mayor producción de energía por hectárea que cualquier otro cultivo en relación con forrajes alternativos, facilidad de cosecha, y las características de conservación (Santos et al. 2009; Erdman et al., 2011; Neylon y Kung, 2003; Wilkinson y Toivonen, 2003)

El proceso de ensilaje

El proceso de la conservación por ensilaje se basa en tratar de inhibir el crecimiento de los microorganismos degradadores de la materia seca (Garcés et al., 2006), lo cual se logra por medio de una fermentación láctica espontánea en condiciones anaerobias. Las bacterias productoras de ácido láctico (BAC) fermentan los carbohidratos hidrosolubles (CHS) del forraje produciendo ácido láctico y en menor cantidad, ácido acético. Acorde con Weinberg y Muck, (1996), al generarse estos ácidos, el pH del material ensilado baja a un nivel que inhibe la presencia de microorganismos que inducen la putrefacción. Una vez que el material fresco ha sido almacenado, compactado y cubierto para excluir el aire, el proceso del ensilaje se puede dividir en cuatro etapas, tal y como lo describen Elferink et al. (1999).

Fase 1 - Fase aeróbica. En esta fase -que dura sólo pocas horas- el oxígeno atmosférico presente en la masa vegetal disminuye rápidamente debido a la respiración de los materiales vegetales y a los microorganismos aeróbicos y aeróbicos facultativos como las levaduras y las enterobacterias. Además, se presenta una actividad importante de varias enzimas vegetales, como las proteasas y las carbohidrasas, siempre que el pH se mantenga en el rango normal para el jugo del forraje fresco (pH 6.5-6.0) (Garcés et al., 2004).

Fase 2 - Fase de fermentación. Esta fase comienza al producirse un ambiente anaeróbico. Dura de varios días hasta varias semanas, dependiendo de las características del material ensilado y de las condiciones en el momento del ensilaje. Si la fermentación se desarrolla con éxito, la actividad BAC proliferará y se convertirá en la población predominante. A causa de la producción de ácido láctico y otros ácidos, el pH bajará a valores entre 3.8 a 5.0.

Fase 3 - Fase estable. Mientras se mantenga el ambiente sin aire, ocurren pocos cambios. La mayoría de los microorganismos de la Fase 2 lentamente reducen su presencia. Algunos microorganismos acidófilos sobreviven este período en estado inactivo; otros, como clostridios y bacilos, sobreviven como esporas. Sólo algunas proteasas y carbohidrasas, y microorganismos especializados, como bacteria del género *Lactobacillus buchneri* que toleran ambientes ácidos, continúan activos pero a menor ritmo.

Fase 4 - Fase de deterioro aeróbico. Esta fase comienza con la apertura del silo y la exposición del ensilaje al aire. Esto es inevitable cuando se requiere extraer y distribuir el ensilaje, pero puede ocurrir antes de iniciar la explotación por daño de la cobertura del silo (p. ej. roedores o pájaros). El período de deterioro puede dividirse en dos etapas. La primera se debe al inicio de la degradación de los ácidos orgánicos que conservan el ensilaje, por acción de levaduras y ocasionalmente por bacterias que producen ácido acético. Esto induce un aumento en el valor del pH, lo que permite el inicio de la segunda etapa de deterioro; en ella se constata un aumento de la temperatura y la actividad de microorganismos que deterioran el ensilaje, como algunos bacilos. La última etapa también incluye la actividad de otros microorganismos aeróbicos -también facultativos- como mohos y enterobacterias. El deterioro aeróbico ocurre en casi todos los ensilajes al ser abiertos y expuestos al aire. Sin embargo, este depende de la concentración y de la actividad de los organismos presentes en el ensilaje. Pérdidas de entre 1.5 y 4.5 por ciento de

materia seca diarias pueden ser observadas en las áreas afectadas. Estas pérdidas son similares a las que pueden ocurrir en silos herméticamente cerrados y durante períodos de almacenaje de varios meses (Honig y Woolford, 1980).

Efecto de la suplementación de ensilaje sobre producción de leche

En un estudio realizado por Amer et al. (2011) las vacas alimentadas con ensilaje de alfalfa produjeron más leche que las vacas alimentadas con ensilaje de sorgo (36.8 vs 33.0 kg/d). Resultados similares fueron observados por Dann et al. (2007), donde obtuvieron diferencia significativa ($P < 0.05$) entre el tratamiento de 45% de ensilaje de nervadura café (28.9 kg/d) y el tratamiento con 35% ensilaje de maíz (32.7 kg/d). Se ha comparado el efecto de la inclusión de ensilaje de maíz en la dieta de vacas Holandesas de alta producción, sin observarse diferencias en el consumo de materia seca en la producción y en la composición de la leche referente al suministro de ensilaje (Valvasori et al., 1998)

Estos resultados contrastan con lo reportado por Oliver et al. (2004), donde no se observaron diferencias sobre la producción de leche de vacas alimentadas con sorgo forrajero nervadura café-6 y ensilaje de maíz. Al mismo tiempo, Bernard et al., (2002), reportaron un incremento lineal en la producción de leche conforme se sustituyó ensilaje de reygrass por ensilaje de maíz. Mientras que Colenbrander et al., (1986), al comparar ensilaje de maíz vs ensilaje de sorgo, obtuvieron un rendimiento de la leche similar para todos los tratamientos, resultados diferentes fueron reportados por McCornick et al. (1990), ya que el consumo de materia seca y la producción de leche fue similar para las vacas alimentadas ya sea con ensilaje de maíz o de reygrass.

Otros autores (Aydin et al., 1999), reportaron diferencias significativa ($P < 0.05$) sobre la producción de leche entre ensilaje de sorgo dulce y ensilaje de nervadura café, siendo similar a los resultados obtenidos en las vacas alimentadas con ensilaje maíz. Luks et al. (1984), también observaron una

producción láctea similar cuando las vacas fueron alimentadas con sorgo nervadura café o un híbrido de maíz de doble propósito.

En un estudio evaluando diferente proporción de ensilaje de alfalfa y ensilaje de maíz (TMT1: Ensilaje de alfalfa, TMT2: 1/3 ensilaje de maíz, TMT3: 2/3 ensilaje de maíz) no obtuvieron diferencia significativa ($P > 0.05$) entre los tratamientos teniendo como respuesta 39.7, 39.1, 39.8 en producción de leche kg/d para cada tratamiento respectivamente (Dhiman y Salter, 1997).

En un estudio realizado por Kowsar et al., (2008) con un 40% de forraje de la ración total, suplementaron el 0, 40, 50 y 60% de ensilaje de maíz reemplazando el heno de alfalfa, reportando un incremento lineal ($P < 0.05$) obteniendo la mayor producción de leche (34.3 kg/día) en el tratamiento que se incluyó un 60% de ensilaje de maíz por sustitución de heno de alfalfa.

Efecto de la suplementación de ensilaje sobre grasa en leche

Mientras que las vacas alimentadas con ensilaje de sorgo dulce producen aproximadamente 35% menos grasa que las vacas alimentadas con ensilaje nervadura café o ensilaje de maíz (Grant et al., 1995). Estudios realizados por Aydin et al. (1999), no obtuvieron diferencias significativas en cuanto al porcentaje de grasa en leche al comparar la inclusión de ensilajes de sorgo de nervadura café, alfalfa, maíz y sorgo forrajero (*Sorghum bicolor*) a un nivel del 65% de la dieta total en vacas Holstein de mediana producción.

Dann et al. (2007), reportaron que el contenido y el rendimiento de la grasa de la leche no fueron diferentes al comparar ensilaje de sorgo de nervadura café vs ensilaje de maíz ofrecidos a niveles del 35 y 45% de la dieta total, aunque el porcentaje de grasa de leche tendió a reducirse en vacas alimentadas con la dieta de ensilaje de maíz (3.43 vs 3.15; $P < .10$).

Bernard et al. (2002), al estar comparando la sustitución de ensilaje de maíz por ensilaje de ryegrass a niveles del 0, 35, 65 y 100% en dietas conteniendo un total de 55.5% de MS en base a ensilaje, observaron una respuesta cúbica para el porcentaje de grasa de la leche, siendo mayor para las dietas que contenían ensilaje de ryegrass en un 35 y 100% (4.08% y 4.0% de grasa, respectivamente), en comparación con el 0 y el 65% de ensilaje de ryegrass (3.74% y 3.63% de grasa, respectivamente). Aunque las dietas basadas en ensilaje de maíz a menudo causan una disminución en el porcentaje de grasa en leche debido a factores tales como la presencia de fibras inadecuadas, no se observaron incrementos en el porcentaje de grasa en leche. Estos mismos autores señalan que el porcentaje de grasa en leche suele aumentar cuando se añade fibra adicional a las dietas a base de ensilaje de maíz y que no existe razón aparente para un menor porcentaje de grasa en leche observado para la dieta que contenía 65% de ensilaje de ryegrass, aunque la digestibilidad de la fibra ácido detergente (FAD) fue numéricamente más bajo para esta dieta.

En un estudio realizado por Oliver et al. (2004), el porcentaje de grasa se mantuvo similar en los animales alimentados con ensilaje de sorgo de nervadura café y ensilaje de maíz (3.89% vs 3.88%), reportando el menor porcentaje para el tratamiento con ensilaje de sorgo forrajero (3.57%). Nichols et al. (1997), no encontraron diferencia significativa al comparar ensilaje de maíz y ensilaje de sorgo.

Hassanat et al., (2013) evaluaron el reemplazo de ensilaje de alfalfa por ensilaje de maíz (0% ensilaje de maíz, 50% ensilaje maíz, 100% ensilaje de maíz) reportaron un efecto lineal ($P < 0.01$) en el porcentaje de grasa, 3.88, 3.47, 3.26 respectivamente, con una tendencia descendente a mayor porcentaje de ensilaje de maíz contenido en la dieta.

Efecto de la suplementación de ensilaje sobre proteína en leche

Amer et al.(2011), no observaron efecto sobre la concentración de proteína de la leche en respuesta al tipo de ensilado incluido en la dieta en un estudio para determinar el valor alimenticio del ensilaje de sorgo dulce comparado con el ensilaje de alfalfa (3.19 vs 3.24, $P > .10$) en una relación 50:50 (forraje:concentrado) donde el ensilaje de sorgo dulce y ensilaje de maíz constituían el 70% del forraje total en cada dieta.

En un estudio realizado por Dann et al., (2007), mediante el cual se evaluaron dietas que contenían ensilaje de sorgo de nervadura café y/o ensilaje de maíz a niveles de 35 y 45% en base a materia seca de la dieta, no se observaron diferencias significativas ($P > .10$) entre los tratamientos al 35% de inclusión, observándose valores de 2.95% y 3.0%, respectivamente, mientras que a nivel de suplementación del 45% se observó diferencia significativa ($P < .05$) con valores de 2.81 y 3.0, respectivamente. Es importante mencionar que el incremento en la concentración de sorgo de nervadura café disminuyó significativamente ($P < .05$) el porcentaje de proteína en leche.

Al mismo tiempo, otros autores (Bernard et al., 2002), no observaron ninguna diferencia entre los tratamientos sobre las concentraciones de proteína en leche en respuesta a la sustitución de ensilaje de ensilaje de maíz por raygrass a niveles del 0, 35, 65 y 100%.

Grant et al. (1995), comparando ensilaje de sorgo de nervadura café vs ensilajes de maíz, alfalfa y sorgo dulce observaron diferencias significativas en el porcentaje de proteína en leche de vacas alimentadas con ensilaje de sorgo forrajero (3.13%) y ensilaje de maíz (3.31%), siendo similares entre los tratamientos de ensilaje de sorgo de nervadura café y alfalfa reportando 3.24 y 3.22%, respectivamente.

En un estudio realizado por Hassanat et al.,(2013) donde evaluaron el reemplazo de ensilaje de alfalfa por ensilaje de maíz (0%, 50% y 100% de ensilaje de maíz) obtuvieron un efecto lineal ($P < 0.01$) con una tendencia a incrementar a medida se sustituía el ensilaje de alfalfa por el ensilaje de maíz, reportando valores de: 3.04%, 3.16% y 3.22% para cada tratamiento.

En un estudio realizado por Kowsar et al., (2008) con un 40% de forraje de la ración total, utilizando el 0, 40, 50 y 60% de ensilaje de maíz reemplazando el heno de alfalfa, obtuvieron diferencia significativa ($P < 0.05$) en el porcentaje de proteína en leche con valores de 2.98, 3.02, 3.08% para cada tratamiento respectivamente,

Efecto de la suplementación de ensilaje sobre lactosa en leche

Aunque Grant et al. (1995), reportaron diferencias significativas de la suplementación de ensilaje de sorgo forrajero con respecto a ensilaje de sorgo de nervadura café y ensilaje de alfalfa, sobre el porcentaje de lactosa en leche; observando valores de 4.72, 4.86 y 4.94, respectivamente, Aydin et al. (1999), no observaron efecto de la suplementación de ensilaje de sorgo forrajero, ensilaje de sorgo de nervadura café y/o ensilaje de maíz sobre el nivel de lactosa en leche (4.97, 5.04, 5.04), respectivamente.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Dann et al. (2007), quienes obtuvieron efectos similares en el porcentaje de lactosa en respuesta a la inclusión de ensilaje de sorgo de nervadura café al 35 y 45% de la dieta total, reportando porcentajes del 4.66 y 4.57 respectivamente. En respuesta a la inclusión de ensilaje de maíz al 35% y 45% observaron valores de 4.72 y 4.56, respectivamente. Otros autores (Oliver et al., 2004), también observaron respuestas similares al estar evaluando dos diferentes híbridos de sorgo; nervadura café-6 y nervadura café-18 contra ensilaje de maíz, obteniendo valores de 4.88, 4.90 y 4.78%, respectivamente.

Efecto de la suplementación de ensilaje sobre sólidos no grasos en leche

En un estudio realizado por Amer et al. (2011), reportaron diferencia significativa mostrando un mejor resultado en el tratamiento para las vacas alimentadas con ensilaje de alfalfa (9.08%) que las que recibieron el ensilaje de sorgo dulce (8.88%). En un estudio realizado por Dhiman y Satter (1997), donde los tratamientos fueron la proporción de ensilaje de alfalfa y ensilaje de maíz en una relación 50:50 (TMT1: Ensilaje de alfalfa, TMT2: 1/3 ensilaje de maíz, TMT3: 2/3 ensilaje de maíz) no obtuvieron diferencia significativa ($P > 0.05$) entre los tratamientos (8.57%, 8.66%, 8.63%).

Efecto de la suplementación de ensilaje sobre nitrógeno ureico en leche

La determinación de los niveles de nitrógeno ureico en leche es considerada una alternativa para determinar el balance proteico del ganado lechero. La relación de la utilización de las proteínas degradables en el rumen y las no degradables o pasantes constituyen el origen de la producción de amoníaco, el cual puede ser transformado en urea por el hígado, la cual circula en sangre y es parcialmente excretado en la leche (Arias y Nesti de Alonso, 1999).

En vacas lecheras altamente productoras, las concentraciones de nitrógeno ureico menores de 15 mg/dL indican una deficiencia relativa de proteína en la dieta. Las concentraciones de nitrógeno ureico mayores de 19 a 20 mg/dL se han relacionado con bajas tasas de concepción y reducción en la gestación de vacas lecheras (Hammond y Chase, 1997). Al mismo tiempo, Roseler et al. (1993), reportan valores que pueden oscilar entre el 12 y el 17%.

En un estudio realizado por Amer et al. (2011), la concentración de nitrógeno ureico en leche (NUL) fue mayor en vacas alimentadas con ensilaje de alfalfa (14.0 mg/dL) que en la leche de las vacas alimentadas con ensilaje de sorgo dulce (10.0 mg/dL). La reducción de NUL y la concentración de

amoníaco ruminal pueden estar relacionada a la alimentación con ensilaje de sorgo debido al bajo contenido de proteína cruda presente en la dieta de ensilaje de sorgo dulce.

Dann et al. (2007), en un estudio donde se utilizaron dos niveles de inclusión (35 y 45%) de ensilaje de sorgo y ensilaje de maíz, no reportaron diferencia significativa entre niveles pero si entre tipo de ensilaje, reportando 12.81 mg/dL para el tratamiento con 45% de ensilaje de sorgo nevadura café y 9.53mg/dL con un 45% de ensilaje de maíz.

Las concentraciones séricas de nitrógeno ureico (12.9, 12.0, 11.9, 12.5mg/dL) no fueron diferentes en respuesta a la inclusión de ensilaje de ryegrass al 0, 35, 65 y 100% en sustitución de ensilaje de maíz (Bernard et al. 2002).

Hassanat et al., (2013) reportaron diferencia significativa ($P<0.01$) con un efecto cuadrático, en un estudio sustituyendo ensilaje de alfalfa por ensilaje de maíz al 0, 50 y 100% del total de la ración, obteniendo valores de 13.8, 11.8 y 13.4 mg/dL para cada tratamiento. Holt et al., (2013) evaluaron ensilaje de maíz convencional contra ensilaje nevadura de café de maíz, en una relación 35:25 ensilaje de maíz:heno de alfalfa en ambos tratamiento, con una diferencia significativa de $P<0.05$ entre tratamientos (12.6 y 13.5 mg/100ml).

Efecto de la suplementación de ensilaje sobre nitrógeno ureico en sangre

El nitrógeno absorbido en la corriente sanguínea de las vacas lecheras resulta de la difusión del amoniaco a través de la pared del rumen y el transporte de aminoácidos y péptidos en el intestino delgado. El amoniaco es tóxico para las vacas y es convertido rápidamente a urea en el hígado. Los aminoácidos y péptidos no son utilizados para la síntesis de leche, son

desaminados en el hígado para producción de energía y el nitrógeno es convertido a urea. Esta urea forma parte de la urea de la sangre, que tiene tres destinos finales: el reciclaje, la secreción en la leche, o la excreción en la orina. El reciclaje de la urea por la saliva, pasando por la pared del rumen, puede ser una fuente importante de proteína en rumiantes. La urea también es filtrada de la sangre por el riñón y es excretada del cuerpo en la orina (Swensen y Reece, 1993).

Como la leche es secretada en la glándula mamaria, la urea se difunde dentro y fuera de la glándula mamaria, equilibrando con urea en la sangre. Debido a este proceso, el NUL es proporcional a la urea en sangre (Roessler et al, 1993; Broderick y Clayton, 1997), y la excreción total de N urinaria se relaciona linealmente con NUL (Ciszuk y Gebregziabher, 1994; Jonker et al., 1998).

OBJETIVO

Evaluar la inclusión de diferentes niveles de ensilaje de maíz reemplazando el heno de alfalfa sobre la producción y calidad de la leche en vacas Holstein en producción.

HIPÓTESIS

La inclusión de ensilaje de maíz en lugar de heno de alfalfa, afecta la producción y composición de leche en vacas Holstein.

MATERIALES Y MÉTODOS

La prueba de producción y composición de leche se realizó durante los meses de octubre a diciembre 2014 en la Unidad de Producción Lechera del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California, ubicada a 3.5 km al sur de Mexicali, en el noroeste de México con una latitud de 32°40', una longitud de 115°28', una altitud de 10 m sobre el nivel del mar y condiciones desérticas. Se utilizaron 12 vacas Holstein en su tercio medio de lactación. Las unidades experimentales se encontraban entre su segunda y tercera lactancia. Cada unidad experimental se asignó a una corraleta con comedero individual y bebedero automático compartido para dos unidades experimentales. Durante todo el experimento los animales contaron con acceso al agua *ad libitum*. La prueba contó con 14 días de adaptación a los tratamientos y 56 días de período de pesado de leche y toma de muestras semanalmente. Previo al periodo de adaptación se tomaron muestras de leche y se midió la producción por animal. El pesado y la toma de muestra de la leche se realizaron los días viernes durante las ordeñas de las 04:30 y 16:30 hrs. Se realizó la determinación simultánea de la composición de la leche bovina (grasa, proteína, lactosa, sólidos no grasos (SNG)) mediante detección ultrasónica con equipo "Lactoscan-S Milk Analyzer, Milkotronic Ltd", así como nitrógeno ureico en leche mediante la determinación cuantitativa de Urea en Leche Bovina mediante método colorimétrico UREA-37 (Spinreact) adaptado a microplacas, empleando equipo espectrofotómetro para microplacas EON marca BIOTEK. Previo a la determinación se realiza desproteinización de la leche según AOAC 998.21 con TCA 15% (ácido tricloroacético). Los análisis de laboratorio se realizaron en el Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California.

Los tres tratamientos consistieron en el nivel de ensilaje de maíz en la dieta: TMT1: 0% (Control); TMT2: 30%, TMT3: 60%. El porcentaje de ensilaje de maíz representó el porcentaje total que se incluirá en sustitución de la alfalfa (BMS). Las dietas se ofrecieron por partes iguales diariamente a las 07:00 y

15:00 hrs. Los animales consumieron las dietas *ad libitum*, asegurándose que en el comedero quede alrededor del 5% del total ofrecido

Tabla 1. Dietas experimentales.

Ingrediente	Tratamientos (% de reemplazo)		
	TMT1	TMT2	TMT3
Alfalfa, heno	60.00	48.00	30.00
Maíz, silo	-----	30.00	60.00
Concentrado comercial	40.00	-----	-----
Pasta de cacahuete	-----	-----	6.00
Maíz, rolado a vapor	-----	22.00	4.00
Composición, % MS			
MS	89.19	59.18	44.22
ENL (Mcal/kg)	1.62	1.59	1.57
PC	20.40	15.19	15.16
EE	4.12	3.80	3.32
FAD	17.88	22.43	26.03
FND	26.00	32.30	37.52
Ca	1.23	0.94	0.70
P	0.49	0.30	0.30
PIC	7.47	5.10	4.49
CPD	13.54	10.53	10.53

TMT 1: 0% de inclusión de ensilaje de maíz.

TMT 2: 30% de inclusión de ensilaje de maíz.

TMT 3: 60% de inclusión de ensilaje de maíz.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 2. Efecto de los tratamientos sobre las variables de respuesta

	Tratamiento			EEM
	T1	T2	T3	
Producción de leche Kg/d	36.32 ^a	28.64 ^b	26.14 ^b	0.81
Nitrógeno ureico en leche mg/dL	10.40 ^a	8.87 ^b	10.65 ^a	0.28
Nitrógeno ureico en sangre mg/dL	21.76 ^a	18.68 ^b	20.99 ^a	0.47
Grasa %	3.70 ^b	3.55 ^b	4.19 ^a	0.08
SNG %	8.11 ^a	7.91 ^a	7.95 ^a	0.08
Densidad %	28.35 ^a	27.56 ^b	27.70 ^b	0.14
Lactosa %	4.32 ^a	4.25 ^a	4.33 ^a	0.04
Proteína %	3.09 ^a	3.00 ^b	3.07 ^a	0.01
Sólidos %	0.680 ^a	0.661 ^b	0.67 ^a	0.003
Sólidos Totales %	11.90 ^a	11.64 ^b	12.21 ^a	0.08

Valores con superíndices entre fila diferentes difieren a $P < 0.05$

T1 = 0% inclusión de ensilaje de maíz

T2 = 30% inclusión de ensilaje de maíz

T3 = 60% inclusión de ensilaje de maíz

Porcentaje de grasa en leche

Las vacas del T3 produjeron mayor porcentaje de grasa en leche (4.19) que vacas en el T1 y T2 (3.70 y 3.55); estas últimas con valores similares ($P > 0.05$). Estos resultados concuerdan con Grant et al., (1995) compararon ensilaje de maíz contra ensilaje de alfalfa con un nivel de inclusión del 65% en la dieta, reportaron un mayor contenido en el porcentaje de grasa para la dieta con ensilaje de maíz. Así mismo con los resultados obtenidos por Oliver et al., (2004) compararon ensilaje de sorgo contra ensilaje de maíz en una relación 40:10 de ensilaje:heno de alfalfa del total de la dieta. Reportó una diferencia significativa, siendo mayor el porcentaje de grasa en leche para el tratamiento con ensilaje de maíz. Holt et al., (2013) compararon ensilaje de maíz convencional y ensilaje de maíz de nervadura café en dietas con relación forraje-concentrado de 60:40, mostraron que la concentración de grasa en leche fue mayor en las vacas alimentadas con ensilaje de maíz convencional.

Sin embargo son diferentes a los reportados por Bernard et al., (2002) que reemplazando ensilaje de maíz por ensilaje de ryegrass a niveles del 0, 35, 65 y 100% en dietas conteniendo un total de 55.5% de MS en base a ensilaje, observaron una respuesta cúbica para el porcentaje de grasa de la leche, siendo mayor para las dietas que contenían ensilaje de raygrass en un 35 y 100%. Hassanat et al., (2013) que reemplazaron ensilaje de alfalfa con ensilaje de maíz en la dieta de vacas lecheras alimentadas en una ración de 60:40 de forraje;concentrado. Reportando una disminución lineal en el porcentaje de grasa a medida se incrementó el ensilaje de maíz.

Así mismo, Aydin et al. (1999), comparando ensilaje de sorgo nevadura de café, ensilaje de alfalfa y ensilaje de maíz con 65% de inclusión en la dieta total, no reportaron diferencia significativa entre tratamientos en el porcentaje de grasa en vacas Holstein de mediana producción. Dann et al., (2007) comparando ensilaje de sorgo contra ensilaje de maíz ofrecidos a niveles del 35 y 45% de la dieta total no encontraron diferencia entre tratamientos en el porcentaje de grasa en leche.

Porcentaje de lactosa en leche

No se observó diferencia significativa ($P>0.05$) entre los tratamientos para el porcentaje de lactosa en leche, con valores de 4.32 para T1, 4.25 para T2 y 4.33 para T3. Estos resultados concuerdan con los encontrados por Grant et al., (1995) donde compararon ensilaje de maíz y ensilaje de alfalfa a nivel de 65% de inclusión en la dieta, no reportaron diferencia significativa entre los tratamientos en el porcentaje de lactosa en leche. Aydin et al., (1999) comparando ensilaje de maíz y ensilaje de alfalfa a nivel de 65% de inclusión en la dieta, no reportaron diferencia significativa entre los tratamientos en el porcentaje de lactosa en leche. Hassanat et al., (2013) reemplazaron ensilaje de alfalfa con ensilaje de maíz en la dieta de vacas lecheras alimentadas en una ración de 60:40 de forraje;concentrado. No observó diferencia en el porcentaje de lactosa con los diferentes niveles de inclusión de ensilaje de

maíz en la dieta. Dann et al. (2007) no observaron diferencia significativa entre los tratamientos en el porcentaje de lactosa en leche comparando dos niveles de inclusión de ensilaje de maíz y ensilaje de sorgo (35 y 45%).

Kowsar et al., (2008) reemplazó heno de alfalfa por ensilaje de maíz con un 0, 40, 50 y 60% de inclusión de ensilaje de maíz en la dieta total para vacas en lactación donde no hubo diferencia significativa en el porcentaje de lactosa en leche, sin embargo se observó una tendencia de un incremento lineal en el contenido de lactosa en la leche a medida se incrementó el ensilaje de maíz en la dieta.

Porcentaje de proteína en leche

Las vacas de T2 produjeron menor cantidad de proteína que vacas de T1 y T3; estas últimas fueron similares ($P > 0.05$) en porcentaje de proteína en leche. La cantidad de proteína de leche fue 3.09%, 3.00% y 3.07% respectivamente en vacas de tratamiento 1, 2 y 3.

Aydin et al., (1999) compararon ensilaje de alfalfa con ensilaje de maíz con un 65% en la dieta, reportaron diferencia significativa, siendo el valor más alto para el tratamiento de ensilaje de maíz.

Hassanat et al., (2013) reemplazó ensilaje de alfalfa por 0, 50 y 100% de inclusión de ensilaje maíz de inclusión en dietas para vacas en producción. Reportó un incremento lineal en el contenido de proteína en la leche a medida se incrementó el ensilaje de maíz. Kowsar et al., (2008) reemplazó heno de alfalfa por ensilaje de maíz con un 0, 40, 50 y 60% de inclusión de ensilaje de maíz en la dieta total para vacas en lactación. Reportó un incremento lineal en el contenido de proteína en la leche a medida se incrementó el ensilaje de maíz en la dieta.

Bernard et al., (2002), no observaron diferencia entre los tratamientos sobre el porcentaje de proteína en leche en respuesta a la sustitución de ensilaje de ensilaje de maíz por raygrass a niveles del 0, 35, 65 y 100%.

Porcentaje sólidos no grasos

No se observó diferencia entre los tratamientos para el porcentaje de sólidos no grasos ($P>0.05$), con valores de 8.11, 7.91 y 7.95 respectivamente para cada tratamiento. Estos resultados son similares a los de Dhiman y Satter (1997), que reemplazando ensilaje de alfalfa por ensilaje de maíz en vacas lecheras, en una proporción 50:50 de forraje:concentrado no encontraron diferencia significativa en el porcentaje de sólidos no grasos en leche. Sin embargo, difieren a los de valores reportados por Amer et al., (2011) comparando el uso de ensilaje de sorgo contra el uso de ensilado de alfalfa en igual proporción, reportando diferencia significativa entre tratamiento, siendo mayor el contenido de sólidos no grasos en el ensilaje de alfalfa en dietas para vacas lecheras. Así mismo, Broderick et al., (2002) comparando ensilaje de pasto ryegrass contra ensilaje de alfalfa, reportaron una diferencia significativa entre ensilaje, siendo mayor el porcentaje de sólidos no grasos para el tratamiento de ensilaje de alfalfa.

Nitrógeno ureico en leche

Las vacas en el T1 y T3 fueron similares ($P>0.05$) con valores de 10.40 y 10.65 mg/dL para cada tratamiento respectivamente. El T3 reportó un valor de 8.87 mg/dL. Estos resultados son similares a los reportados por Hassanat et al., (2013) donde sustituyeron ensilaje de alfalfa por ensilaje de maíz al 0, 50 y 100% del total de la ración reportaron un efecto cuadrático entre tratamiento, siendo de menor valor para el tratamiento con 50% de ensilaje de maíz, así mismo, Dann et al. (2007), donde utilizaron dos niveles de inclusión (35 y 45%) de ensilaje de sorgo y ensilaje de maíz, no reportaron diferencia significativa entre niveles pero si entre tipo de ensilaje, siendo para el ensilaje de maíz valores menores de nitrógeno ureico en leche.

Aunque Amer et al. (2011), utilizaron ensilaje de alfalfa observaron mayor cantidad de NUL, similar al T1, que las vacas alimentadas con ensilaje de sorgo dulce. La reducción de NUL y la concentración de amoníaco ruminal pueden estar relacionadas con la alimentación de ensilaje de sorgo debido al bajo contenido de proteína cruda presente en la dieta de ensilaje de sorgo dulce.

Estos resultados difieren con los de Bernard et al., (2002) que reemplazaron ensilaje de maíz con ensilaje de pasto ryegrass donde no reportaron diferencia significativa entre tratamientos. Holt et al., (2013) evaluaron ensilaje de maíz convencional contra ensilaje de maíz nevadura de café, en una relación 35:25 ensilaje de maíz:heno de alfalfa en ambos tratamiento, reportaron diferencia significativa entre tratamientos. La concentración de NUL disminuyó por la alimentación de las dietas basadas con ensilaje de maíz nevadura de café.

Jonker et al. (1998) indicaron que NUL es afectada indirectamente por la eficiencia de la fermentación de nitrógeno ruminal y la digestibilidad de los hidratos de carbono, a través de un aumento en la secreción de nitrógeno en la leche, una disminución en la ingesta de nitrógeno. En vacas lecheras altamente productoras, las concentraciones de nitrógeno ureico menores de 15 mg/dL indican una deficiencia relativa de proteína en la dieta. Las concentraciones de nitrógeno ureico mayores de 19 a 20 mg/dL se han relacionado con bajas tasas de concepción y reducción en la gestación de vacas lecheras (Hammond y Chase, 1997). Al mismo tiempo, Roseler et al. (1993), reportan valores que pueden oscilar entre el 12 y el 17%.

Producción de leche

Las vacas de T1 produjeron mayor cantidad de leche que vacas de T2 y T3; estas últimas fueron similares ($P>0.05$) en producción de leche. La

producción de leche fue 36.32, 28.64, 26.14 1kg/d respectivamente en vacas de tratamiento 1, 2 y 3. Estos resultados coinciden con los reportados por Amer et al. (2011) quienes compararon ensilaje de sorgo con ensilaje de alfalfa con un 35% en la dieta, ellos reportaron diferencia significativa entre tratamientos, siendo las vacas alimentadas con ensilaje de alfalfa que produjeron más leche que las vacas alimentadas con ensilaje de sorgo. Los resultados observados concuerdan con Hassanat et al., (2013) quienes reemplazaron ensilaje de alfalfa con ensilaje de maíz en una relación 60:40 de forraje:concentrado, reportaron un incremento lineal a medida se sustituía el ensilaje de alfalfa por el ensilaje de maíz. Kowsar et al., (2008) reemplazó parcialmente heno de alfalfa en la dieta con ensilaje de maíz a niveles de 0, 40,50 y 60% del total del forraje y también observaron un incremento lineal en la producción diaria de leche cuando se sustituía un 60% de ensilaje de maíz por heno de alfalfa.

Estos resultados difieren a los encontrados por Dhiman y Salter (1997) donde utilizaron diferentes niveles de ensilaje de maíz sustituyendo el ensilaje de alfalfa en dietas para vacas en lactación, no reportaron diferencia entre tratamientos en la producción diaria de leche. Oliver et al., (2004) comparó ensilaje de maíz con ensilaje de sorgo convencional, reportando diferencia entre tratamiento para la producción de leche diaria, siendo el valor más alto para el tratamiento de ensilaje de maíz.

CONCLUSIONES

El T1 y T2 mostraron comportamientos similares en la calidad de la leche para las variables de proteína, sólidos totales, sólidos, nitrógeno ureico en leche y en sangre, sin embargo, el T1 obtuvo mejores valores para la producción de leche, aunque el porcentaje de grasa se vio afectando, siendo mejor en el T3. El T2 es el que se vio más afectado en todas sus variables para la calidad de la leche.

LITERATURA CITADA

- Acosta, Y., M.I. Delucchi, M. Olivera y C. Dieste. 2005. Urea en leche: factores que la afectan. INIA, Uruguay.
- Amer S., P. Seguin, and A.F. Mustafa. 2012. Effects of feeding sweet sorghum silage on milk production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:859–863.
- Arias, J., y A. Nesti de Alonso. 1999. Importancia de los niveles de nitrógeno ureico en leche y sangre en el ganado lechero. *Rev. Fac. Agro.* 16:553-561.
- Aydin, G., R. J. Grant, and J. O. O’Rear. 1999. Brown midrib sorghum in diets for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:2127-2135.
- Bernard, J. K., J. W. West, and D. S. Trammell. 2002. Effect of Replacing Corn Silage with Annual Ryegrass Silage on Nutrient Digestibility, Intake, and Milk Yield for Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 85:2277–2282.
- Beever, D. E. 1993. Rumen function. Pages 187–215 in *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism*. 1st ed. J. M. Forbes and J. France, ed. CABI Publishing, Wallingford, UK.

- Brito, A. F., and G. A. Broderick. 2006. Effect of Varying Dietary Ratios of Alfalfa Silage to Corn Silage on production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:3924–3938.
- Calderón, A., F. García, G. Martínez. 2006. Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. *Rev. MVZ Córdoba* 11 (1): 725-737.
- Castro, J. J., J. K. Bernard, N. A. Mullis y R. B. Eggleston. 2010. Brown midrib corn silage and Tifton 85 bermudagrass in rations for early-lactation cows. *J. Dairy Sci.* 93: 2143-2152.
- Cañete, M. V., y J. L. Sacha. 1998. Ensilado de forrajes y su empleo en la alimentación de rumiantes, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. p. 1- 260.
- Chamberlain, A. T., y J. M. Wilkinson. 2002. Alimentación de la vaca lechera. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 317 p.
- Colenbrander, V. F., D. L. Hill, and M. L. Eastridge. 1986. Formulating Dairy Rations with Neutral Detergent Fiber. 1. Effect of Silage Source. *J Dairy Sci.* 69:2718-2722.

Cook, N. B. 2003. Prevalence of lameness among dairy cattle in Wisconsin as a function of housing type and stall surface. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 223:1324–1328.

Dann, H. M., R. J. Grant, K. W. Cotanch, E. D. Thomas, C. S. Ballard, and R. Rice. 2007. Comparison of brown midrib sorghum-sudangrass with corn silage on lactational performance and nutrient digestibility of Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91:663-672.

Dhiman, T. R., and L. D. Satter. 1997. Yield response of dairy cows fed different proportions of alfalfa silage and corn silage. *J. Dairy Sci.* 80:2069–2082.

Elferink, S. J. W. H. O., F. Driehuis, J. C. Gottschal, and S. F. Spoelstra. 2000. Silage fermentation processes and their manipulation. *FAO Plant Production and Protection Papers*, 17-30.

Erdman, R. A., L. S. Piperova, and R. A. Kohn. 2011. Corn silage versus corn silage:alfalfa hay mixtures for dairy cows: Effects of dietary potassium, calcium, and cation-anion difference *J. Dairy Sci.* 94 :5105–5110.

Garcés Molina A., L. Berrio., S. Ruiz, J. G. Serna de León, A. F. Builes. 2004. Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. *Rev. Lasall. Inv.* 1: 66-71.

- Garcés Molina A., E. Suárez, J. Guillermo y S. Ruíz. 2006. Evaluación de la calidad bromatológica del ensilaje de pasto kikuyo y maní forrajero. Rev. Lasall. Inv. Corporación Universitaria Lasallista. 3: 34-37
- Grant, R. J., S. G. Haddad, K. J. Moore, and J. F. Pedersen. 1995. Brown midrib sorghum silage for midlactation dairy cows. J. Dairy Sci. 78:1970-1980.
- Hammond, A. C. y J. C. C. Chase. 1997. Uso de indicadores en la sangre y la leche para determinar el estado nutricional y reproductivo del ganado vacuno. Centro Internacional de Agricultura Tropical. 295: 15-25.
- Hassanat, F., R. Gervais, C. Julien, D. I. Massé, A. Lettat, P. Y. Chouinard, H. V. Petit, and C. Benchaar. 2013. Replacing alfalfa silage with corn silage in dairy cows diets: Effects on enteric methane production, ruminal fermentation, digestion, N balance and milk production. J. Dairy Sci. 96:4553-4567.
- Holt, M. S., J. S. Eun, C. R. Thacker, A. J. Young, X. Dai and K. E. Nestor Jr. 2013. Effects of feeding brown midrib corn silage with a high dietary concentration of alfalfa hay on lactational performance of Holstein dairy cows for the first 180 days of lactational. J. Dairy Sci. 96:515-523.

Honig, H. and M. K. Woolford 1980. Changes in silage on exposure to air. Thomas (ed.) Forage Conservation in the 80s. Occasional Symposium No. 11. British Grassland Society, Hurley, Berkshire, UK. p.76-87.

Kleinschmit, D. H., D. J. Schingoethe, A. R. Hippen, and K. F. Kalscheur. 2007. Dried distillers grains plus solubles with corn silage or alfalfa hay as the primary forage source in dairy cow diets. *J. Dairy Sci.* 90:5587–5599.

Kowsar, R., G. R. Ghorbani, M. Alikhani, M. Khorvash, and A. Nikkhah. 2008. Corn silage partially replacing short alfalfa hay to optimize forage use in total mixed rations for lactating cows. *J. Dairy Sci.* 91:4755-4764.

Leonardi, C., F. Giannico, and L. E. Armentano. 2005. Effect of water addition on selective consumption (sorting) of dry diets by dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 88:1043–1049.

Lusk, J. W., P. K. Karau, and D. O. Balogu. 1984. Brown mibrid sorghum or corn silage for milk production. *J. Dairy Sci.* 67:1739-1744.

McCormick, M. E., E. B. Morgan, T. F. Brown, and A. M. Saxton. 1990. Relationships between silage digestibility and milk production among Holstein cows. Proc. Forage and Grassland Conf., Am. Forage Grassland Council, Belleville. p60–64.

Méndez M. 2000. Aprendamos sobre ensilajes. Núcleo de formación y servicios tecnológicos agropecuarios Subsector Zootecnia. Instituto Nacional de Aprendizaje (INA). Editorial INA. San José, Costa Rica. p. 1-10.

Nelson, W. F., and L. D. Satter. 1990. Effect of stage of maturity and method of preservation of alfalfa on production by lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73:1800–1811.

Neylon, J. M., and L. Kung Jr.. 2003. Effects of cutting height and maturity on the nutritive value of corn silage for lactating cows. *J. Dairy Sci.* 86:2163–2169.

Nichols, S. W., M. A. Froetschel, H. E. Amos and L. O. Ely. 1997. Effects of fiber from tropical corn and forage sorghum silages on intake, digestion, and performance of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:2383-2393.

Oliver, A.L., R. J. Grant, J. F. Pederson, and J. O’rear. 2004. Comparison of Brown Midrib-6 and -18 Forage Sorghum with Conventional Sorghum and Corn Silage in Diets of Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 87:637–644.

- Olmos Colmenero, J. J., y G. A. Broderick. 2006. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:1704–1712.
- Roseler, D. K., J. D. Ferguson, C. J. Sniffen and J. Herrema. 1993. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk non-protein nitrogen in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 76:525-534.
- Ruppert, L. D., J. K. Drackley, D. R. Bremmer, and J. H. Clark. 2003. Effects of tallow in diets based on corn silage or alfalfa silage on digestion and nutrient use by lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:593–609.
- Santos, M. V., A.G. Gomez, M. Peres, J.M. Perea, G.M. Fernandez, A. Garcia y R.L.C. Ferreira. 2009. Composição química de silagens obtidas em microsilos encobertos por plástico confeccionados com diferentes produtos- Resultados preliminares. XVIII Congresso de Zootecnia, UTAD-Vila Real Portugal, p. 462-465.
- Smith, W. A., B. Harris Jr, H. H. Van Horn, and C. J. Wilcox. 1993. Effects of forage type on production of dairy cows supplemented with whole cottonseed, tallow, and yeast. *J. Dairy Sci.* 76:205– 215.
- Soto, P. and Jahn, E. 1993. Use of irrigated lucerne in different growth stages. Evaluation under cutting. Proceeding of the XVIII International Grassland Congress. Palmerston North, New Zealand. 8-21 February 1993. p. 869-870.

Sutton, J. D. 1989. Altering Milk Composition by Feeding. J Dairy Sci 72:2801-2814.

Valvasori, E., C. S., Lucci. C.S., F. L. Pires. 1998b. Silagem de cana-de-açúcar em substituição a silagem de sorgo granífero para vacas leiteiras. Braz. J. Vet. Res. Animal Sci., v.35, n.3, p. 139- 142.

Weinberg, Z. G., y R.E. Muck 1996. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. Rev. FEMS Microbiol. 19:53-68.

Wilkinson, J. M., and M. I. Toivonen. 2003. World Silage. Chalcombe Publications, Lincoln, UK.

Ruminal alkalizing potential of brucite and sodium bicarbonate for feedlot cattle diets

Abstract

Four Holstein steers (320 kg) with ruminal cannulas were used in a 4 × 4 Latin square experiment to evaluate the effect of brucite (BR), the native mineral form of magnesium hydroxide (MgOH) and sodium bicarbonate (SB) on ruminal fermentation characteristics following a glucose challenge. Dietary treatments were (DM basis): 1) control (no supplemental buffer); 2) 0.5% BR; 3) 1% BR, and 4) 1% SB. The basal diet contained 70% steam-flaked wheat, 4% yellow grease, and 12% forage. On the day of collection, 500 g of glucose was introduced via ruminal cannula 1 h after the morning feeding. The T₅₀ (time required for 50% reactivity at pH 6.0) of BR and SB was 450 and 0.5 min, respectively. Ruminal pH tended to be lower ($P < 0.05$) but ruminal fluid buffer capacity was higher ($P < 0.05$) 1 h after feeding (just before the glucose challenge) for control than buffer supplemented diets. Subsequently, treatment effects on ruminal pH and buffer capacity were small ($P > 0.10$). There was an inverse relationship ($R^2 = 0.64$) between ruminal pH and lactate concentration. Ruminal lactate was highest during the first 2 h following the glucose challenge. Buffers tended to decrease ruminal lactic acid concentration at 1 h ($P=0.09$) and 5 h after the glucose challenge. Buffers tended to decrease ($P = 0.08$) ruminal VFA concentrations 1 h before feeding. There was no treatment effect ($P>0.05$) on ruminal concentration of acetate, propionate, butyrate, acetate to propionate ratio, and methane. In average, VFA concentration tended to be lower ($P=0.06$) for SB than 0.5% BR. Buffer

1
2
3
4 decreased ($P < 0.05$) ruminal protozoal numbers. BR had lower ($P < 0.05$) average ruminal
5
6 glucose concentration than SB. Ruminal fluid Mg concentration increased ($P < 0.05$) with
7
8 level of BR supplementation. Supplementation with 1% BR or 1% SB decreased average
9
10 ruminal osmolality ($P < 0.05$). Supplementing with 0.5% BR did not affect ($P > 0.10$)
11
12 ruminal osmolality. No relationships were observed ($P > 0.10$) between osmolality and
13
14 ruminal pH or lactic acid concentrations. It is concluded that ruminal alkalizing equivalence
15
16 of BR and SB are similar. Neither BR nor SB are effective for altering ruminal buffering
17
18 capacity; both reduce lactate during the first few hours following a glucose challenge, and
19
20 may depress ruminal protozoal population.
21
22
23
24
25
26
27

28 **Key Words:** cattle, rumen, magnesium hydroxide, sodium bicarbonate, buffer.
29
30
31

32 **1. Introduction**

33
34 Brucite (BR) is the naturally occurring mineral form of magnesium hydroxide, containing
35
36 35% magnesium and 2.5% calcium. The apparent total tract digestibility of BR is similar to
37
38 that of magnesium oxide (Thomas et al. 1984); however ruminal availability of Mg in BR
39
40 has not been reported. Similarly, the influence of BR supplementation on acceptability or
41
42 palatability of diets fed to feedlot cattle has not been evaluated. Supplementing a high-
43
44 energy lactation diet with 0.5% BR decreased DM intake and milk yield in Holstein cows
45
46 (Thomas and Hall 1984). However, BR supplementation increased DM intake in lambs fed
47
48 a barley-based finishing diet (Boukila et al. 1995). The latter response was attributed to the
49
50 ruminal alkalizing potential of BR (Smith and Correa 2004).
51
52
53
54
55

56 On an equivalent cation basis, BR has 240% (28.5 vs 11.9 mEq H^+ /g) the acid
57
58
59
60

1
2
3
4
5 consuming or alkalizing capacity of sodium bicarbonate (SB). However, the value of a
6 buffering agent is a function of both, its alkalizing capacity and ruminal reactivity or
7 solubility. Ruminal reactivity of SB is high (50% reacted in 0.6 min at pH 6.0; James and
8 Wohlt 1985). The ruminal reactivity of BR has not been reported. However, based on the
9 low reactivity of magnesium oxide (50% reacted in 130 min at pH 6.0; James and Wohlt
10 1985), it is expected that the ruminal reactivity of BR might be slower and less complete
11 than that of SB. The objective of this study was to evaluate the ruminal alkalizing potential
12 and ruminal effects of BR versus SB in steers fed a high concentrate finishing diet.
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24

25 **2. Material and methods**

26 All procedures involving animal care and management were in accordance with and
27 approved by the University of California, Davis, Animal Use and Care Committee.
28
29
30
31

32 Four Holstein steers (320 kg) with ruminal cannulas were used in a 4×4 Latin
33 square design experiment. Steers were housed individually in slotted-floor pens (1.42 x
34 2.74 m) equipped with automatic waterers. Ambient temperature in the metabolism unit
35 was maintained between 21 and 26°C. The experiment consisted of four 21-d periods, each
36 one with a 16-d diet adjustment period followed by a 5-d collection period. Dry matter
37 intake was restricted to 2.2% of body weight. Diets (Table 1) were fed in equal proportions
38 at 0800 and 2000 daily. A 500 g dose of glucose was dumped at 0900, via ruminal cannula
39 on each collection day. Ruminal fluid samples (300 mL) were collected via ruminal cannula
40 according to the following schedule: 0700, 0900 (just before the glucose challenge), and at
41 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500. Ruminal fluid pH was determined on fresh samples.
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Ruminal fluid samples were strained through 4 layers of cheesecloth. Freshly prepared 25% (wt/vol) *m*-phosphoric acid (2 mL) was added to 8 mL of strained ruminal fluid. Samples were then centrifuged ($17,000 \times g$ for 10 min) and supernatant fluid stored at -20°C for analysis of L (+) lactic acid (Sigma Procedure No. 826-UV; Sigma®, St. Louis, MO), VFA concentrations (gas chromatography; Zinn 1988); and glucose (Zinn 1990). A separate sample of strained ruminal fluid (100 mL) was used for measuring ruminal soluble magnesium (atomic absorption spectrophotometer), buffer capacity (Stroud et al. 1985), osmotic pressure (Micro Osmete 5004 Precision System. Tech Circle. Natick, Mass.), and total protozoa (1 mL of strained ruminal fluid was mixed with 8 mL of 0.16 N saline solution plus 1 mL of a 10% formol solution, and protozal counts determined using a Neubauer counter). Methane production (mol/mol glucose equivalent fermented) was estimated based on the theoretical fermentation balance for observed molar distribution of VFA (Wolin 1960).

Experimental data were analyzed as a 4×4 Latin Square. Comparisons of treatment means were based on LSD. Also, treatment effects were tested using the following contrasts: control (CTL) vs Buffer; MgOH vs NaHCO₃; and MgOH 0.5 vs 1% (Stastix 9, Analytical Software, USA).

3. Results and discussion

The reactivity of BR and SB at pH 6.0 was recorded. Whereas BR has 240% the ruminal alkalizing capacity of SB, ruminal solubility of BR is much lower. The T_{50} (time required for 50% reactivity at pH 6.0) of BR was 900 X that of SB (450 vs. 0.5 min). Prior

1
2
3
4 estimates of the T_{50} of SB have ranged from 0.6 to 1.2 min (James and Wohlt 1985).
5
6 Assuming a ruminal passage rate of 5%/h, the ruminal availabilities of BR and SB are 43
7
8 and 95% respectively.
9
10

11 Treatment effects on ruminal pH are shown in Table 2. Ruminal pH 1 h after
12 feeding (just before the glucose challenge) tended to be greater ($P < 0.09$) for buffer than
13 for control supplemented diets; subsequently, there were no treatment effects on ruminal
14 pH ($P > 0.10$). Although buffer treatments differed greatly in ruminal available alkalizing
15 equivalents (particularly during the first hour after feeding: 0.103, 0.206, 0.306 mE for
16 0.5% BR, 1% BR or 1% SB, respectively), differences between alkalizing agents with
17 respect to ruminal pH were small. Others (Gonzalez et al. 2008) have likewise observed
18 minimal effects of SB supplementation on mean ruminal pH and total area under the pH
19 curve in cattle fed high-concentrate diets. Candanosa et al. (2008) observed that
20 supplemental SB tended to increase ruminal pH during the first 2 h after feeding, but
21 subsequently buffer supplementation was without effect. Candanosa et al. (2005) observed
22 that SB supplementation did not affect ruminal fermentation or blood chemistry in the
23 sheep. In contrast, Boerner et al. (1987) and Zinn et al. (1991) observed increased ruminal
24 pH with SB supplementation of high grain finishing diets feed to feedlot cattle. Smith and
25 Correa (2004) observed increased ruminal pH with magnesium hydroxide supplementation.
26 Boukila et al. (1995) observed that supplementation with CaOH_2 and MgOH_2 to the diet,
27 alone or in combination, improved the systemic acid-base status in sheep.
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50

51 There was no treatment effect ($P > 0.05$) on ruminal concentration of acetate (Table
52 3), propionate (Table 4), isobutyrate (Table 5), butyrate (Table 6), valerate (Table 8),
53 acetate to propionate ratio (Table 9), and methane (Table 10). Isovalerate was similar
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4 between control and buffer treated animals ($P=0.74$), however 0.5% BR was lower than SB
5
6 ($P=0.04$; Table 7). In agreement with present study, SB did not influence ruminal VFA
7
8 molar proportions (Russell et al. 1980). However, the influence of SB on ruminal molar
9
10 proportions is not consistent. Sodium bicarbonate supplementation has decreased (Zinn
11
12 1991), increased (Boerner et al. 1987) or not influenced (Golder et al. 2014) ruminal
13
14 propionate. Also, sodium bicarbonate has decreased (Kawas et al. 2007), or increased
15
16 (Candanosa et al. 2005; González et al. 2008) or not influenced (Golder et al. 2014) acetate
17
18 to propionate ratio.
19
20
21
22

23
24 In agreement with present study, methane production has not been influenced by SB
25
26 supplementation (Zinn 1991). However, supplemental magnesium oxide decreased in vitro
27
28 methane production (Váradyová et al. 2007).
29

30
31 Treatment effects on ruminal L-lactic acid concentrations are shown in Table 11.
32
33 Consistent with previous studies (Ha et al. 1983) there was an inverse relationship ($R^2 =$
34
35 0.64) between ruminal pH and L-lactic acid concentration. Likewise, Horn et al. (1979)
36
37 observed that ruminal lactic acid was greatest during the first 2 h following the glucose
38
39 challenge. Buffers tended to decrease ruminal lactic acid concentration at 1-h ($P=0.09$), 5-h
40
41 or for the average time ($P=0.07$) after the glucose challenge. Likewise, Xu et al. (1994)
42
43 observed decreased ruminal lactic acid concentrations with buffer addition to a high
44
45 concentrate diet. Hart and Doyle (1985) reported that 2% SB diet did not influence ruminal
46
47 lactic acid concentration in lambs fed a 61% concentrate diet (4.97 and 4.61 mg/dL for
48
49 control and SB supplemented diets, respectively). Similarly, Kilmer et al. (1981) did not
50
51 observe an effect of SB supplementation (0.8%) on ruminal lactic acid concentration in
52
53 cattle fed a 50% concentrate-diet, although ruminal lactic acid concentration was
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4 numerically lower in non-supplemented cattle (122 and 152 mg/dL for control and SB
5 supplemented cattle, respectively).
6
7

8
9 There ruminal lactic acid concentration did not affect ($P > 0.10$) ruminal fluid buffer
10 capacity. Leruyet et al. (1992) reported that reduced ruminal concentrations of fermentation
11 acids may increase buffer capacity in rumen. However, this effect was not apparent in the
12 present study.
13
14

15
16 Treatment effects on ruminal total-VFA concentration are shown in Table 12.
17
18 Supplementation with buffers tended to decrease ($P = 0.08$) ruminal VFA concentrations 1
19 h before feeding. There were no treatment effects ($P > 0.10$) on ruminal VFA
20 concentrations after the glucose challenge. On average, VFA concentration tended to be
21 lower ($P=0.06$) for SB than 0.5% BR. Buffer supplementation have not had a consistent
22 effect on ruminal VFA production. In some studies (Horn et al. 1979; Thomas and Hall
23 1984; James and Wohlt 1985; Stroud et al. 1985), buffer supplementation has decreased
24 ruminal VFA concentrations. Boukila et al. (1995) also observed decreased ruminal VFA
25 concentration in sheep supplemented with magnesium hydroxide. In contrast, Candanosa et
26 al. (2005) observed increased total VFA with buffer supplementation. In other studies
27 (González et al. 2008), buffer supplementation did not affect ruminal VFA concentration.
28
29

30
31 Treatment effects on osmolality (tonicity) of ruminal fluid are shown in Table 13.
32
33 Ruminal fluid osmolality fluctuated from 242 to 368 mOsm/kg. These values are within the
34 normal range, as reported by Marshall et al. (1992). Osmolality was greatest 1 h after the
35 glucose challenge, returning to pre-feeding values by 3 h after the glucose challenge. On
36 average, supplementation with 1% BR or 1% SB decreased ruminal osmolality ($P < 0.05$).
37
38 Supplementing with 0.5% BR did not affect ($P > 0.10$) ruminal osmolality. No associations
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5 were observed ($P > 0.10$) between osmolality and ruminal pH or lactic acid concentrations.
6
7 Likewise, Candanosa et al. (2008) did not observe an effect of SB supplementation on
8
9 ruminal osmolality. Although, in contrast with the present study, they observed a negative
10
11 association between ruminal pH and osmolality ($r = -0.71$). Horn et al. (1979) did not
12
13 observe an effect of 2% buffer (2% bentonite, 1% bentonite + 1% limestone, or 1%
14
15 bentonite + 1% potassium bicarbonate) supplementation on ruminal fluid osmolality at 0, 1,
16
17 2, 4, 8, 12, and 24 h after feeding in steers fed an 85% corn-based diet. Stroud et al. (1985)
18
19 also did not observe effect of 1% SB supplementation on ruminal fluid osmolality in steers
20
21 fed a 76% cracked corn-based diet.
22
23
24

25
26 Consistent with Dehority and Males (1974), there was no association ($P > 0.10$)
27
28 between ruminal osmolality and ruminal protozoal numbers (Table 14). This is
29
30 understandable, because ruminal fermentation products and mineral ion concentrations play
31
32 the primary role in determining ruminal osmolality (Carter and Grovum 1990). However,
33
34 Mendoza et al. (1993) observed increased ruminal osmolality following defaunation.
35
36
37

38 Average ruminal buffering capacity was greater ($P = 0.01$) for BR than for the SB
39
40 supplemented diets, but not different ($P > 0.05$) than that of the control diet (Table 15).
41
42 Average ruminal buffering capacity tended ($P = 0.06$) to decrease when supplemental BR
43
44 was increased from 0.5 to 1.0%. Thomas et al. (1984) observed that SB supplementation
45
46 did not affect ruminal buffering capacity. In the present study there is no association
47
48 between ruminal buffer capacity and ruminal pH. In contrast, Stroud et al. (1985) observed
49
50 that SB supplementation increased both ruminal pH and ruminal buffering capacity.
51
52
53

54 Supplemental buffers decreased ($P < 0.05$) ruminal protozoal numbers (Table 14).
55
56 Similar responses were reported by Garg and Nangia (1991). Likewise, magnesium
57
58
59
60

1
2
3
4 hydroxide decreased ruminal protozoal numbers (Smith and Correa 2004). In contrast,
5 Candanosa et al. (2008) did not observe an effect of supplemental SB on ruminal
6 protozoal numbers in finishing lambs.
7
8
9

10
11 Consistent with previous work (Dehority and Males 1974), ruminal pH did not
12 influence ruminal protozoal numbers ($P > 0.10$). Mendoza et al. (1993), also observe no
13 direct relationship between ruminal protozoal numbers and ruminal lactic acid
14 concentration. Smith and Correa (2004) observed increased rumen pH and methylene blue
15 reduction times which were related with rumen microbial fermentation reduction.
16
17
18
19
20
21

22
23 Treatment effects on ruminal glucose concentrations are shown in Table 16. As was
24 expected, ruminal glucose concentration increased during the first hour after feeding and
25 after the glucose challenge, returning to pre-feeding levels by 4 to 5 h after feeding. The
26 high ruminal glucose concentration 1 h after the glucose challenge indicates that the
27 metabolism of free glucose by ruminal microorganisms may be much slower than has been
28 suggested (500%/h, NRC 1996). Measurements obtained in this experiment do not permit a
29 direct determination of glucose degradation rate. However, assuming that ruminal volume
30 is 40 L, ruminal glucose passage rate is 10%/h, and that the change in ruminal glucose
31 concentration during the first hour following the glucose challenge (208 mg/dL) represents
32 residual from the glucose challenge, ruminal degradation rate of glucose would have been
33 73%/h.
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48

49
50 Supplementation with SB did not influence ($P > 0.10$) ruminal glucose
51 concentrations. However, BR supplementation lowered ($P < 0.05$) average ruminal glucose
52 concentration. Consistent with Slyter (1976), ruminal lactic acid concentration was not
53 associated ($P > 0.10$) with ruminal ruminal glucose concentration.
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4 As expected, ruminal fluid Mg concentration increased ($P < 0.05$) with level of BR
5
6 supplementation (Table 17). Thomas et al. (1984) also reported increased concentration of
7
8 ruminal Mg after supplementing cows fed a 50% concentrate diet with magnesium oxide or
9
10 magnesium hydroxide.
11
12

13 14 15 16 **4. Implications**

17
18 Brucite has 240% the alkalizing potential of sodium bicarbonate. However, the ruminal
19
20 alkalizing equivalence of the two is similar, due to the lower ruminal reactivity of brucite.
21
22 Neither brucite nor sodium bicarbonate are effective in enhancing ruminal buffering
23
24 capacity, and have only minor effects on ruminal pH. However, both reduced ruminal lactic
25
26 acid during the first few hours following a glucose challenge, when lactic acid
27
28 accumulation is normally greatest. Supplementation with either brucite or sodium
29
30 bicarbonate may depress ruminal protozoal population.
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40

41 42 43 44 **5. References**

- 45 Boerner BJ, Byers FM, Schelling GT, Coppock CE, Greene LW. 1987. Trona and sodium
46
47 bicarbonate in beef cattle diets: effects on pH and volatile fatty acid concentrations.
48
49 J. Anim Sci. 65:309-316.
- 50
51 Boukila B, Seoane JR, Bernier JF. 1995. Effects of dietary hydroxides on intake, digestion,
52
53 rumen fermentation and acid-base balance in sheep fed a high-barley diet. Can. J.
54
55 Anim. Sci. 75:359-369.
56
57
58
59
60

- 1
2
3
4 Candanosa E, Mendoza GD, Salcedo R. 2005. Effect of sodium bicarbonate and glucose
5 on ruminal fermentation, acid-base balance and blood chemistry in sheep. *Revista*
6 *Cientifica-Facultad de Ciencias Veterinarias*. 15:41-48.
7
8
9
10
11 Candanosa E, Villa-Godoy A, Castillo DA, Mendoza GD. 2008. Effects of monensin,
12 virginiamycin and sodium bicarbonate on ruminal fermentation and acid-base status
13 in sheep. *J. Anim. and Vet. Advan.* 7:184-189.
14
15
16
17
18
19 Carter RR, Grovum WL. 1990. A review of the physiological significance of hypertonic
20 body fluids on feed intake and ruminal function: salivation, motility and microbes. *J.*
21 *Anim. Sci.* 68:2811-2832.
22
23
24
25
26 Dehority BA, Males J R. 1974. Osmolality: evaluation of its influence upon the occurrence
27 and numbers of holotrich protozoa in sheep. *J. Anim. Sci.* 38:865-870.
28
29
30
31 Garg SL, Nangia OP. 1991. Studies on dilution rate and pattern of rumen fermentation by
32 inclusion of sodium bicarbonate in the diet of buffaloes. *International J. Anim. Sci.*
33 6:111-121.
34
35
36
37
38 Golder HM, Celi P, Rabiee AR, Lean IJ. 2014. Effects of feed additives on rumen and
39 blood profiles during a starch and fructose challenge. *J. Dairy Sci.* 97:985-1004.
40
41
42
43 Gonzalez LA, Ferret A, Manteca X, Calsamiglia S. 2008. Increasing sodium bicarbonate
44 level in high-concentrate diets for heifers. 1. Effects on intake, water consumption
45 and ruminal fermentation. *Animal*. 2:705-712.
46
47
48
49
50 Ha JK, Emerick RJ, Embry LB. 1983. In vitro effect of pH variations on rumen
51 fermentation, and in vivo effects of buffers in lambs before and after adaptation to
52 high concentrate diets. *J. Anim. Sci.* 56:698-706.
53
54
55
56
57
58
59
60 Hart SP, Doyle JJ. 1985. Adaptation of early-weaned lambs to high-concentrate diets with

- 1
2
3
4 three grain sources, with or without sodium bicarbonate. *J. Anim. Sci.* 61:975-984.
5
6
7 Horn GW, Gordon JL, Prigge EC, Owens FN. 1979. Dietary buffers and ruminal and blood
8
9 parameters of subclinical lactic acidosis in steers. *J. Anim. Sci.* 48:683-691.
10
11 James LG, Wohlt JE. 1985. Effect of supplementing equivalent amounts from NaCl, MgO₃
12
13 and CaCO₃ on nutrient utilization and acid-base status of growing Dorset lambs fed
14
15 high concentrate diets. *J. Anim. Sci.* 60:307-315.
16
17
18 Kawas JR, Garcia-Castillo R, Fimbres-Durazo H, Garza-Cazares F, Hernandez-Vidal JFG,
19
20 Olivares-Saenz E, Lu CD. 2007. Effects of sodium bicarbonate and yeast on
21
22 nutrient intake, digestibility, and ruminal fermentation of light-weight lambs fed
23
24 finishing diets. *Small Rum. Res.* 67: 149-156
25
26
27
28 Kilmer LH, Muller LD, Snyder TJ. 1981. Addition of sodium bicarbonate to rations of
29
30 postpartum dairy cows: physiological and metabolic effects. *J. Dairy Sci.* 64:2357-
31
32 2369.
33
34
35 Leruyet P, Tucker WB, Aslam M, Lema M, Shin IS, Miller TP, Adams GD. 1992. Effects
36
37 of dietary fiber and dietary buffer value index on ruminal conditions in lactating
38
39 dairy cows. *Anim. Sci. Res. Rep. Oklahoma State. Univ.* MP-136, p. 87-96.
40
41
42 Marshall SA, Campbell CP, Mandell IB, Wilton JW. 1992. Effects of source and level of
43
44 dietary neutral detergent fiber on feed intake, ruminal fermentation, ruminal
45
46 digestion in situ and total tract digestion in beef cattle fed pelleted concentrates with
47
48 or without supplemental forages. *J. Anim. Sci.* 70:884-893.
49
50
51
52 Mendoza GD, Britton RA, Stock RA. 1993. Influence of ruminal protozoa on site and
53
54 extent of starch digestion and ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.* 71:1572-1578.
55
56
57 NRC. 1996. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press,
58
59
60

1
2
3
4 Washington, DC.
5

6
7 Russell JR, Young AW, Jorgensen NA. 1980. Effect of sodium bicarbonate and limestone
8
9 to high grain diets on feedlot performance and ruminal and fecal parameters in
10
11 finishing steers. *J. Anim. Sci.* 51:996-1002.
12

13
14 Smith GW, Correa MT. 2004. The effects of oral magnesium hydroxide administration on
15
16 rumen fluid in cattle. *J. Vet. Internal. Med.* 18:109-112.
17

18
19 Slyter LL. 1976. Influence of acidosis on rumen function. *J. of Anim. Sci.* 43:910-929.
20

21
22 Stroud TE, Williams JE, Ledoux DR, Paterson JA. 1985. The influence of sodium
23
24 bicarbonate and dehydrated alfalfa as buffers on steers performance and ruminal
25
26 characteristics. *J. Anim. Sci.* 60:551-559.
27

28
29 Thomas EE, Hall MW. 1984. Effect of sodium bicarbonate and tetrasodium pyrophosphate
30
31 upon utilization of concentrate-and-roughage-based cattle diets: cattle studies. *J.*
32
33 *Anim. Sci.* 59:1309-1319.
34

35
36 Thomas JW, Emery RS, Breaux JK, Liesman JS. 1984. Response of milking cows fed a
37
38 high concentrate, low roughage diet plus sodium bicarbonate, magnesium oxide, or
39
40 magnesium hydroxide. *J. Dairy Sci.* 67:2532-2545.
41

42
43 Wolin MJ. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *J. Dairy Sci.* 43:1452-1459.
44

45
46 Xu S, Harrison JH, Riley RE, Loney KA. 1994. Effect of buffer addition to high grain total
47
48 mixed rations on rumen pH, feed intake, milk production, and milk composition. *J.*
49
50 *Dairy Sci.* 77:782-788.
51

52
53 Zinn RA. 1988. Comparative feeding value of supplemental fat in finishing diets for feedlot
54
55 steers supplemented with or without monensin. *J. Anim. Sci.* 66:213-227.
56

57
58 Zinn RA. 1990. Influence of flake density on the comparative feeding value of steam-
59
60

1
2
3
4 flaked corn for feedlot cattle. J. Anim. Sci. 68:767-775.
5

6
7 Zinn RA. 1991. Comparative feeding value of steam-flaked corn and sorghum in finishing
8
9 diets supplemented with or without sodium bicarbonate. J. of Anim. Sci. 69:905-
10
11 916.
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

For Peer Review Only

Table 1. Ingredient Composition, % (DM basis) of experimental diets fed to steers.

Item	Control	MgOH, %		NaHCO ₃ , %
		0.5	1.0	1.0
Alfalfa hay	4.00	4.00	4.00	4.00
Sudangrass hay	8.00	8.00	8.00	8.00
Flaked wheat	70.60	70.10	69.60	69.60
Cottonseed meal	2.20	2.20	2.20	2.20
Yellow grease	4.00	4.00	4.00	4.00
Cane molasses	8.00	8.00	8.00	8.00
Urea	1.00	1.00	1.00	1.00
Ammonium sulfate	0.20	0.20	0.20	0.20
Limestone	1.40	1.40	1.40	1.40
Magnesium hydroxide		0.50	1.00	
Sodium bicarbonate				1.00
Dicalcium phosphate	0.20	0.20	0.20	0.20
Trace mineral salt ^a	0.40	0.40	0.40	0.40
Nutrient composition (DM basis) ^b				
NE, Mcal/kg				
Maintenance	2.24	2.24	2.23	2.23
Gain	1.55	1.55	1.55	1.55
Crude protein, %	12.5	12.4	12.4	12.4
ADF, %	6.9	6.9	6.9	6.9
Lipid, %	7.2	7.2	7.2	7.2

^aTrace mineral salt contained: CoSO₄, .068%; CuSO₄, 1.04%; FeSO₄, 3.57%; ZnO, 1.24%; MnSO₄, 1.07%; KI, .052%; and NaCl, 92.96%.

^bBased on tabular values for individual feed ingredients (NRC, 1996) with exception of supplemented fat which was assigned NE_m and NE_g values of 6.03 and 4.79, respectively.

Table 2. Influence of buffers on ruminal fluid pH.

Time	Buffer					P values		
	Control	MgOH, %		NaHCO ₃ , %	SEM	CTL vs Buffer	MgOH vs NaHCO ₃	MgOH 0.5 vs 1
		0.5	1.0	1.0				
0700	6.43	6.29	6.22	6.33	0.13	0.35	0.65	0.69
0900	6.05	6.28	6.19	6.32	0.09	0.09	0.45	0.52
1000	5.52	5.50	5.51	5.64	0.09	0.74	0.26	0.94
1100	5.44	5.48	5.56	5.53	0.10	0.52	0.91	0.61
1200	5.86	5.70	5.80	5.88	0.10	0.60	0.34	0.50
1300	5.85	5.80	5.85	5.98	0.11	0.86	0.30	0.76
1400	5.95	5.85	5.89	5.95	0.11	0.69	0.57	0.82
1500	5.94	5.89	5.85	6.06	0.10	0.97	0.16	0.77
Average	5.80	5.78	5.80	5.91	0.09	0.75	0.32	0.87

Table 3. Influence of buffers on ruminal fluid acetate (mol/100 mol)

Time	Buffer					P values		
	Control	MgOH, %		NaHCO ₃ , %	SEM	CTL vs Buffer	MgOH vs NaHCO ₃	MgOH 0.5 vs 1
		0.5	1.0	1.0				
0700	59.3	54.8	54.9	56.6	3.5	0.38	0.70	0.99
0900	58.0	57.8	56.9	57.7	2.9	0.89	0.92	0.83
1000	55.0	55.3	51.79	55.03	2.9	0.78	0.67	0.43
1100	54.5	51.2	54.1	54.0	2.6	0.65	0.67	0.45
1200	54.0	51.1	49.6	51.2	3.0	0.37	0.83	0.74
1300	54.4	53.8	52.8	53.0	1.7	0.47	0.90	0.70
1400	55.7	52.6	53.0	51.2	3.9	0.48	0.76	0.95
1500	57.0	54.1	52.3	54.4	1.9	0.18	0.62	0.53
Average	55.7	53.8	52.7	53.7	2.5	0.46	0.92	0.77

Table 4. Influence of buffers on ruminal fluid propionate (mol/100 mol)

Time	Control	Buffer			SEM	P values		
		MgOH, %		NaHCO ₃ , %		CTL vs	MgOH vs	MgOH
		0.5	1.0	1.0		Buffer	NaHCO ₃	0.5 vs 1
0700	18.7	24.3	24.5	24.4	3.7	0.35	0.42	0.96
0900	21.0	24.6	23.82	23.6	3.3	0.47	0.89	0.90
1000	23.1	27.7	28.5	27.1	3.2	0.25	0.80	0.86
1100	25.5	30.2	24.3	27.7	3.4	0.65	0.92	0.27
1200	25.7	30.0	28.4	30.5	3.8	0.41	0.80	0.77
1300	24.0	28.4	25.3	27.8	2.2	0.26	0.74	0.35
1400	23.8	28.0	25.2	25.5	3.3	0.55	0.80	0.58
1500	22.5	28.5	26.9	25.7	2.6	0.19	0.55	0.67
Average	23.6	28.1	26.3	26.9	3.1	0.36	0.94	0.69

Table 5. Influence of buffers on ruminal fluid isobutyrate (mol/100 mol)

Time	Control	Buffer			SEM	P values		
		MgOH, %		NaHCO ₃ , %		CTL vs	MgOH vs	MgOH
		0.5	1.0	1.0		Buffer	NaHCO ₃	0.5 vs 1
0700	1.65	1.84	1.69	1.69	0.08	0.37	0.45	0.21
0900	1.10	1.46	1.50	1.26	0.15	0.13	0.28	0.84
1000	0.91	1.00	0.99	1.16	0.17	0.45	0.97	0.42
1100	0.81	0.97	1.02	0.90	0.08	0.17	0.37	0.70
1200	0.97	0.86	1.03	0.99	0.12	0.95	0.76	0.31
1300	0.62	0.72	0.85	0.83	0.10	0.16	0.78	0.39
1400	0.89	0.85	1.22	0.87	0.15	0.61	0.39	0.12
1500	0.89	0.90	1.06	0.66	0.18	0.96	0.20	0.56
Average	0.90	0.98	1.07	0.95	0.08	0.32	0.48	0.49

Table 6. Influence of buffers on ruminal fluid butyrate (mol/100 mol)

Time	Buffer					P values		
	Control	MgOH, %		NaHCO ₃ , %	SEM	CTL vs Buffer	MgOH vs NaHCO ₃	MgOH 0.5 vs 1
		0.5	1.0	1.0				
0700	15.7	13.7	12.3	15.9	1.43	0.35	0.15	0.53
0900	13.6	12.08	12.17	13.34	1.18	0.46	0.43	0.96
1000	14.4	12.3	13.8	13.3	1.4	0.46	0.88	0.48
1100	15.5	13.5	15.4	13.8	1.5	0.47	0.73	0.39
1200	15.7	14.0	15.0	13.8	1.6	0.47	0.72	0.67
1300	15.4	13.2	15.2	14.7	1.4	0.53	0.79	0.33
1400	15.5	13.1	14.9	14.1	1.5	0.44	0.95	0.46
1500	15.6	12.4	14.6	14.3	1.5	0.33	0.67	0.34
Average	15.1	12.9	14.5	13.9	1.4	0.44	0.91	0.45

Table 7. Influence of buffers on ruminal fluid isovalerate (mol/100 mol)

Time	Buffer					P values		
	Control	MgOH, %		NaHCO ₃ , %	SEM	CTL vs Buffer	MgOH vs NaHCO ₃	MgOH 0.5 vs 1
		0.5	1.0	1.0				
0700	2.98	2.99	2.83	3.40	0.36	0.83	0.31	0.76
0900	2.39	2.06	2.38	2.28	0.37	0.73	0.90	0.56
1000	1.81	1.72	1.88	1.87	0.33	0.97	0.87	0.73
1100	1.93	1.69	1.80	1.72	0.24	0.51	0.92	0.75
1200	1.72	1.61	2.94	1.72	0.60	0.61	0.48	0.17
1300	3.16	1.63	1.95	1.87	0.67	0.13	0.92	0.75
1400	2.14	1.84	2.17	4.70	1.17	0.59	0.11	0.85
1500	2.14	1.74	1.85	2.87	0.44	0.98	0.09	0.87
Average	2.20 ^{ab}	1.76 ^b	2.13 ^{ab}	2.51 ^a	0.18	0.74	0.04	0.19

^aMeans in the same row with different letters differ (P < 0.05).

Table 8. Influence of buffers on ruminal fluid valerate (mol/100 mol)

Time	Control	Buffer			SEM	P values		
		MgOH, %	1.0	NaHCO ₃ , %		CTL vs Buffer	MgOH vs NaHCO ₃	MgOH 0.5 vs 1
0700	1.71	2.37	3.76	1.97	1.00	0.43	0.41	0.37
0900	3.90	2.10	3.22	1.80	1.42	0.38	0.64	0.59
1000	4.77	2.08	3.07	1.58	1.78	0.27	0.67	0.71
1100	1.76	2.44	3.39	1.86	0.65	0.33	0.23	0.34
1200	1.87	2.40	2.99	1.84	0.41	0.30	0.14	0.35
1300	1.97	2.30	3.82	1.81	0.70	0.43	0.20	0.18
1400	1.98	3.62	3.55	3.58	1.12	0.26	0.99	0.97
1500	1.92	2.25	3.29	2.04	0.52	0.35	0.30	0.21
Average	2.52	2.42	3.31	2.15	0.67	0.90	0.42	0.39

Table 9. Influence of buffers on ruminal fluid acetate to propionate ratio (mol/100 mol)

Time	Control	Buffer			SEM	P values		
		MgOH, %	1.0	NaHCO ₃ , %		CTL vs Buffer	MgOH vs NaHCO ₃	MgOH 0.5 vs 1
0700	3.27	2.56	2.45	2.85	0.46	0.26	0.56	0.87
0900	2.79	2.57	2.54	2.50	0.41	0.60	0.92	0.96
1000	2.38	2.15	2.01	2.07	0.31	0.45	0.98	0.78
1100	2.16	1.77	2.53	1.98	0.40	0.89	0.73	0.23
1200	2.10	1.78	1.94	1.78	0.32	0.48	0.88	0.70
1300	2.29	1.96	2.20	1.94	0.24	0.39	0.64	0.50
1400	2.35	1.97	2.41	2.04	0.40	0.67	0.77	0.46
1500	2.54	1.97	2.16	2.16	0.26	0.19	0.78	0.64
Average	2.37	2.01	2.18	1.02	0.32	0.45	0.86	0.70

Table 10. Influence of buffers on ruminal fluid methane (mol/mol glucose equivalent fermented)

Time	Control	Buffer			SEM	P values		
		MgOH, %		NaHCO ₃ , %		CTL vs Buffer	MgOH vs NaHCO ₃	MgOH 0.5 vs 1
		0.5	1.0	1.0				
0700	0.60	0.53	0.53	0.57	0.05	0.36	0.50	0.99
0900	0.58	0.54	0.54	0.55	0.04	0.56	0.90	0.98
1000	0.54	0.50	0.47	0.50	0.04	0.35	0.74	0.68
1100	0.52	0.46	0.52	0.49	0.04	0.63	0.95	0.32
1200	0.51	0.46	0.46	0.45	0.05	0.39	0.91	0.93
1300	0.53	0.49	0.51	0.49	0.03	0.30	0.80	0.56
1400	0.54	0.48	0.51	0.50	0.05	0.49	0.95	0.71
1500	0.55	0.49	0.49	0.51	0.03	0.18	0.53	0.91
Average	0.54	0.49	0.50	0.50	0.04	0.38	0.92	0.86

Table 11. Influence of buffers on ruminal lactic acid (mg/dL)

Time	Control	Buffer			SEM	P values		
		MgOH, %		NaHCO ₃ , %		CTL vs Buffer	MgOH vs NaHCO ₃	MgOH 0.5 vs 1
		0.5	1.0	1.0				
0700	9.85	8.75	9.89	9.24	0.59	0.44	0.91	0.22
0900	12.33	10.54	12.73	10.44	0.78	0.27	0.26	0.10
1000	36.13	24.40	29.38	22.86	4.47	0.09	0.49	0.46
1100	29.45	26.65	19.25	20.02	4.62	0.18	0.74	0.44
1200	12.25	12.92	13.11	11.97	1.73	0.84	0.64	0.94
1300	11.81	11.78	11.77	12.79	0.58	0.77	0.47	0.99
1400	11.77	9.48	9.99	9.14	0.86	0.07	0.59	0.69
1500	12.09	11.52	9.79	9.01	1.21	0.21	0.31	0.35
Average	17.98	15.04	15.14	13.47	1.31	0.07	0.35	0.96

Table 12. Influence of buffers on total volatile fatty acids (mmol/mL)

Time	Control	Buffer			SEM	P values		
		MgOH, %		NaHCO ₃ , %		CTL vs Buffer	MgOH vs NaHCO ₃	MgOH 0.5 vs 1
0700	66.6 ^a	62.1 ^{ab}	54.6 ^{ab}	48.1 ^b	4.8	0.08	0.13	0.31
0900	70.6	72.2	57.7	54.9	5.2	0.18	0.17	0.10
1000	70.0	73.3	67.2	65.5	3.8	0.78	0.35	0.30
1100	70.9	67.8	71.0	68.9	4.2	0.74	0.91	0.61
1200	58.2	67.2	69.5	65.4	4.4	0.12	0.61	0.73
1300	61.9	67.3	68.5	53.3	5.1	0.85	0.06	0.88
1400	68.0	66.9	55.6	60.1	8.4	0.49	0.92	0.38
1500	65.8	71.9	59.9	49.8	8.5	0.61	0.17	0.36
Average	66.5 ^{ab}	69.5 ^a	64.2 ^{ab}	59.68 ^b	2.6	0.53	0.06	0.20

^aMeans in the same row with different letters differ (P < 0.05).

Table 13. Influence of buffers on rumen fluid osmolality (mOsm/kg)

Time	Control	Buffer			SEM	P values		
		MgOH, %		NaHCO ₃ , %		CTL vs Buffer	MgOH vs NaHCO ₃	MgOH 0.5 vs 1
0700	325.75	323.63	309.38	301.63	16.76	0.49	0.50	0.57
0900	354.37	335.37	310.25	329.37	17.67	0.20	0.77	0.35
1000	367.87 ^a	356.25 ^{ab}	322.37 ^b	332.75 ^{ab}	12.02	0.07	0.68	0.09
1100	331.50 ^a	333.37 ^a	283.37 ^b	329.75 ^a	8.81	0.17	0.10	<0.01
1200	317.00 ^{ab}	326.00 ^a	303.25 ^{ab}	298.50 ^b	7.11	0.38	0.11	0.06
1300	313.00	317.87	299.00	322.37	10.88	0.99	0.40	0.27
1400	313.62	283.50	263.50	251.87	32.44	0.25	0.61	0.68
1500	328.50 ^a	273.12 ^{ab}	253.37 ^{ab}	242.25 ^b	22.65	0.03	0.48	0.56
Average	332.3 ^a	317.9 ^{ab}	290.7 ^c	301.0 ^{bc}	7.50	0.02	0.73	0.04

^aMeans in the same row with different letters differ (P < 0.05).

Table 14. Influence of buffers on ruminal protozoa ($n \times 10^5$)

Time	Control	Buffer			SEM	P values		
		MgOH, %	NaHCO ₃ , %			CTL vs Buffer	MgOH vs NaHCO ₃	MgOH 0.5 vs 1
0700	14.59	5.72	5.50	9.88	3.63	0.12	0.37	0.98
0900	11.31	4.81	5.25	7.47	2.34	0.09	0.43	0.90
1000	12.03	3.81	3.78	6.72	2.75	0.06	0.42	0.99
1100	11.78	4.41	5.09	5.34	2.22	0.04	0.84	0.83
1200	10.44 ^a	2.56 ^b	3.78 ^b	5.41 ^{ab}	1.80	0.02	0.35	0.65
1300	10.96 ^a	2.68 ^b	3.44 ^b	6.59 ^{ab}	2.08	0.03	0.22	0.81
1400	11.37 ^a	2.03 ^b	3.25 ^{ab}	4.28 ^{ab}	2.41	0.03	0.60	0.73
1500	10.13 ^a	4.53 ^{ab}	3.53 ^b	3.69 ^{ab}	1.87	0.03	0.89	0.72
Average	11.15 ^a	3.55 ^b	4.02 ^b	5.62 ^{ab}	2.06	0.03	0.49	0.88

^aMeans in the same row with different letters differ ($P < 0.05$).

Table 15. Influence of treatments on rumen fluid buffering capacity (mEq/L)

Time	Control	Buffer			SEM	P values		
		MgOH, %	NaHCO ₃ , %			CTL vs Buffer	MgOH vs NaHCO ₃	MgOH 0.5 vs 1
0700	94.12 ^a	86.50 ^{ab}	79.80 ^b	88.66 ^a	2.24	0.01	0.09	0.08
0900	80.73	77.89	71.31	74.25	5.01	0.32	0.96	0.40
1000	73.92	79.68	70.80	68.29	4.60	0.86	0.26	0.22
1100	72.91 ^{ab}	77.30 ^a	75.91 ^a	66.73 ^b	2.53	0.90	0.02	0.71
1200	70.75 ^{ab}	76.05 ^a	74.04 ^{ab}	65.29 ^b	2.58	0.74	0.02	0.60
1300	74.80	73.84	78.79	68.19	3.19	0.76	0.08	0.32
1400	75.04	65.60	64.13	56.79	7.24	0.18	0.40	0.89
1500	79.36	73.98	70.84	68.78	7.20	0.36	0.70	0.77
Average	75.36 ^a	74.90 ^a	72.26 ^a	66.90 ^b	1.51	0.07	0.01	0.06

^aMeans in the same row with different letters differ ($P < 0.05$).

Table 16. Influence of buffers on ruminal fluid glucose (mg/dL)

Time	Control	Buffer			SEM	P values		
		MgOH, %		NaHCO ₃ , %		CTL vs Buffer	MgOH vs NaHCO ₃	MgOH 0.5 vs 1
		0.5	1.0	1.0				
0700	3.09	2.80	0.95	0.77	1.05	0.24	0.42	0.26
0900	5.55	4.65	5.99	4.79	1.14	0.77	0.72	0.44
1000	245.69	162.89	148.81	297.10	58.00	0.55	0.09	0.87
1100	11.93	3.73	1.55	23.82	10.46	0.86	0.15	0.89
1200	2.79	2.45	4.47	4.96	1.12	0.40	0.32	0.25
1300	2.39	2.44	1.57	0.85	0.56	0.29	0.25	0.32
1400	3.65	3.48	1.41	2.20	0.77	0.20	0.80	0.10
1500	2.73	4.32	3.88	4.77	1.11	0.26	0.64	0.79
Average	39.25	26.28	23.95	48.36	7.49	0.49	0.05	0.83

Table 17. Influence of buffers on ruminal fluid magnesium (mg/dL)

Time	Control	Buffer			SEM	P values		
		MgOH, %		NaHCO ₃ , %		CTL vs Buffer	MgOH vs NaHCO ₃	MgOH 0.5 vs 1
		0.5	1.0	1.0				
0700	4.46 ^b	5.18 ^{ab}	9.96 ^a	5.5 ^{ab}	1.45	0.20	0.29	0.06
0900	4.60 ^b	6.47 ^b	11.30 ^a	6.19 ^b	1.37	0.08	0.16	0.05
1000	6.75 ^c	11.29 ^b	15.71 ^a	7.80 ^{bc}	1.80	<0.01	<0.01	0.03
1100	9.09 ^{bc}	13.44 ^{ab}	17.23 ^a	6.88 ^c	1.81	0.15	<0.01	0.20
1200	8.92 ^b	13.90 ^{ab}	17.54 ^a	7.73 ^b	2.04	0.13	0.02	0.25
1300	9.36 ^b	14.24 ^{ab}	17.45 ^a	7.87 ^b	1.99	0.15	0.02	0.30
1400	7.39 ^{bc}	11.69 ^{ab}	14.80 ^a	5.75 ^c	1.5	0.10	<0.01	0.19
1500	7.39 ^{bc}	11.18 ^{ab}	15.04 ^a	5.56 ^c	1.4	0.10	<0.01	0.10
Average	7.64 ^c	11.74 ^b	15.58 ^a	6.82 ^c	1.00	0.02	<0.01	0.04

^aMeans in the same row with different letters differ (P < 0.05).



INFLUENCE OF TIME BETWEEN RUMINAL GLUCOSE CHALLENGES ON RUMEN FUNCTION

[INFLUENCIA DEL LAPSO ENTRE DESAFIOS RUMINALES CON GLUCOSA EN LA FUNCIÓN RUMINAL]

Martín F. Montaña-Gómez^{*1}, Miguel Mellado-Bosque²,
Juan O. Chirino-Romero¹, Víctor M. González-Vizcarra¹,
Olga M. Manríquez-Núñez¹, Oliva F. Guevara-Florentino¹,
Constantino Raymundo-Hernández¹, Efrén Ramírez-Bribiesca³
and Richard A. Zinn⁴

¹Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Baja California, México, E-mails: martinmg@uabc.edu.mx, octavio.chirino@uabc.edu.mx, vvizcarra@uabc.edu.mx, omaritza@uabc.edu.mx, fabio87g@hotmail.com, Constantino.raymundo@uabc.edu.mx

²Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Producción Animal, Saltillo, Mexico. E-mail: miguel.mellado@uaaan.mx

³Colegio de Posgraduados. Programa de ganadería. Montecillo, Edo de México, E-mail: efrenrb@colpos.mx

⁴Department of Animal Science, University of California, Davis 95616, USA, E-Mail: razinn@ucdavis.edu

*Corresponding author

SUMMARY

Ruminal lactic acidosis is one of the most important metabolic problems in feedlot cattle. Gradually transitioning cattle to finishing-feedlot diets may reduce the risk for ruminal acidosis by providing sufficient time for adaptation. This adaptation of feedlot cattle to high-concentrate diets may cause marked changes in the ruminal environment, and time is required to establish stable ruminal conditions. However, few studies have evaluated the ruminal adaptation in steers. A metabolism trial was conducted to evaluate the effects of two consecutive glucose challenges on rumen function in steers fed a high-energy finishing diet. Four Holstein steers (320 kg LW) with cannula in the rumen were used in a 4 x 4 Latin square design. Four treatments were used and consisted of the time elapsed between both challenges of glucose (2, 4, 6 or 8 d). Ruminal fluid samples were taken at 0700 h (just prior the first glucose challenge), and from the second challenge (d 2, 4, 6, or 8) at 1 h before and 2, 4, 6, 8, 28, 52, 124, 196 and 268 h. As the time between fluctuation of energy intake increased, ruminal fluid pH ($P < 0.05$) and ruminal L-lactic acid increased linearly ($P < 0.10$) after the first challenge. However, ruminal pH and L-lactic acid were not related ($P > 0.10$). During the first 6 h following the second glucose challenge ruminal fluid pH decreased. No effects of treatments on ruminal pH were observed ($P > 0.10$) among treatments from 3

days after the second challenge. Ruminal fluid osmotic pressure increased ($P < 0.10$) after dosed glucose with all treatments. Ruminal osmolality increased ($P < 0.10$) as the time between challenges were 2 or 4 days. After dosed glucose, total volatile fatty acids increased, except by treatment 1 after second challenge. Total volatile fatty acid and pH were related positively ($R^2 = 0.69$). As the time increased, a tendency on increment of concentrations of protozoa was observed. Ruminal glucose concentration decreased linearly ($P < 0.10$) 2 h after the second fluctuation of energy intake. We conclude that ruminal alterations are magnified as the time between glucose challenge decreases.

Key words: Cattle, acidosis, glucose, lactate.

RESUMEN

La acidosis ruminal láctica es uno de los problemas metabólicos más importantes que se presentan en la engorda de bovinos de carne. Una adaptación transitoria a dietas de finalización puede reducir el riesgo de acidosis ruminal proporcionando el tiempo suficiente para su adaptación. Este proceso de adaptación de los bovinos a dietas altas en concentrados involucra marcados cambios en el ambiente ruminal, para lo cual se requiere de cierto tiempo con la finalidad de que las condiciones ruminales se mantengan estables. De cualquier manera, solo pocos estudios han evaluado este

proceso de adaptación en bovinos. Se condujo un ensayo de metabolismo para evaluar los efectos de dos desafíos consecutivos con glucosa (500 g) en la función ruminal de novillos alimentados con una dieta de finalización alta en energía. Se usaron cuatro novillos Holstein (320 kg PV) con cánula ruminal, en un diseño de cuadrado latino 4 x 4. Se evaluaron cuatro tratamientos que consistieron en el tiempo transcurrido entre los desafíos con glucosa (2, 4, 6 u 8 d). La dieta basal contenía 72% de trigo hojueado al vapor, 3% de grasa amarilla y 8% de forraje. Los desafíos de glucosa se introdujeron al rumen vía la cánula ruminal simultáneamente a la oferta de la ración matutina. Se colectaron muestras ruminales a las 0700 h (justo antes del primer desafío con glucosa), y del segundo desafío (d 2, 4, 6, u 8) a 1 h antes y a 2, 4, 6, 8, 28, 52, 124, 196 y 268 h. A medida que el tiempo entre la fluctuación en el consumo de energía se incrementó, el pH del fluido ruminal ($P < 0.05$) y el ácido L-láctico se incrementaron linealmente ($P < 0.10$) después del primer desafío. Sin embargo, no se observó relación ($P > 0.10$) entre el pH y el ácido L-láctico. Durante las primeras 6 h siguientes al segundo desafío con glucosa el pH ruminal disminuyó.

INTRODUCTION

When a high amount of free glucose is accumulated in the rumen of animals fed a high-starch ration, ruminal lactic acidosis may be present (Allison, 1976). This nutritional alteration is considered the most important metabolic problem in feedlot (Irwin *et al.*, 1979). Vogel and Parrot (1994), observed that death due to digestive disorders comprised 30% of the total death loss in feedlot cattle. Likewise, Slyter (1976), observed that time required for ruminal stabilization after a digestive disturbance may be a week or more. The prophylactic methods used in the feedlot industry to prevent lactic acidosis such as restriction of feed intake or slow incremental adaptations to increasing dietary energy concentration have resulted in reduced gain and feed efficiency (Tremere *et al.*, 1968; Muir *et al.*, 1980). Daily fluctuations in feed intake affect behavior in feedlot presumably by its influence on ruminal function (Britton and Stock, 1987; Zinn, 1987). Although fluctuations in feed intake have been observed without effect on the parameters of feedlot cattle performance (Stock *et al.*, 1995; Soto *et al.*, 1998), Fulton *et al.* (1979) and Galyean *et al.* (1992) observed that intake variation decreased animal gain and feed efficiency. Stock *et al.* (1995), reported that the magnitude of intake variance was 5 to 10 times greater for the individual steer within a pen than for the average of the commercial pen lot. The physiological mechanisms affected as cattle adapt to wide variation in intake cattle fed high-energy diets are not clear, but may be related to the interval between respective challenges.

No se observó ($P > 0.10$) efecto de los tratamientos en el pH ruminal a partir del tercer día después del segundo desafío. La presión osmótica del fluido ruminal se incrementó ($P < 0.10$) después de la dosis de glucosa con todos los tratamientos. La osmolaridad ruminal se incrementó ($P < 0.10$) a medida que el tiempo entre desafíos fue de 2 a 4 d. Después de dosificar la glucosa, los ácidos grasos volátiles totales se incrementaron, excepto en el tratamiento 1, posterior al segundo desafío. Los ácidos grasos volátiles totales y el pH se relacionaron positivamente ($R^2 = 0.69$). A medida que el lapso entre desafíos se incrementó, se observó tendencia al incremento de la concentración de protozoarios. La concentración ruminal de glucosa disminuyó linealmente ($P < 0.10$) 2 h después de la segunda fluctuación en el consumo de energía. Se concluye que las fluctuaciones en el consumo de alimento pueden afectar la función ruminal, observándose mayores alteraciones a medida que disminuye el tiempo entre desafíos.

Palabras clave: Ganado, acidosis, glucosa, lactato.

Therefore, the objective of this study was to evaluate the influence of two challenges of glucose at different times on rumen function in steers fed a high-concentrate finishing diet.

MATERIALS AND METHODS

Four Holstein steers (320 kg \pm 15 LW) with ruminal cannulas were used in a 4 x 4 Latin square design experiment to evaluate the effect of two consecutive glucose challenges on ruminal characteristics. Steers were housed individually on slotted-floor pens (1.42 x 2.74 m) equipped with automatic drinkers. Ambient temperature in the metabolism unit was maintained between 21 and 26°C. The trial consisted of four 21-d periods, 11 d for treatment application and sampling and 10 d for adaptation. Dry matter intake was restricted to 2.2% of body weight. A steam-flaked wheat-based finishing diet (Table 1) was fed in equal proportions at 0800 and 2000 h daily. Wheat was selected as it may cause greater ruminal acidity than others grains (Tremere *et al.*, 1968; Slyter, 1976; Owens, 1998). Two single doses of 500 g of glucose mixed in 2 L of water at 40°C were administered via the ruminal cannula at 0800 h. The first dose was administered on day 0 and the second dose at the following days: d2, d4, d6 or d8 (treatment 1, 2, 3 or 4, respectively). Ruminal fluid samples (250 ml approx.) were collected via the ruminal cannula according to the following schedule: d 0: 0700 h (just prior the first glucose challenge). On day of the second challenge (d 2, 4, 6, or 8) ruminal samples were obtained at 0700,

1000, 1200, 1400, and 1600 h. During days 1, 2, 5, 8 and 11 after the second glucose challenge, ruminal samples were obtained at 1200 h. Ruminal fluid pH was determined on fresh samples. Ruminal fluid samples were strained through 4 layers of cheesecloth. Freshly prepared 25% (w/v) *m*-phosphoric acid (2 mL) was added to 8 mL of strained ruminal fluid. Samples were then centrifuged (17,000 x g for 10 min) and supernatant fluid stored at -20°C for analysis of L (+) lactic acid (Sigma Technical Bulletin 826-UV, 1990), Glucose (Zinn, 1990) and VFA concentrations (gas chromatography; Zinn, 1991). A separate sample of strained ruminal fluid (100 mL) was used for measuring osmotic pressure (Micro Osmette), and total protozoa (1 mL of strained ruminal fluid was mixed with 8 mL of 0.16 N saline solution plus 1 mL of a 10% formol solution, and protozoal counts determined using a Neubauer counter). This trial was analyzed as a 4 x 4 Latin square (Hicks, 1973).

Table 1. Composition of experimental diet (% DM basis)

Item	%
Alfalfa hay	4.00
Sudangrass hay	4.15
Steam-flaked wheat	72.50
Yellow grease	3.00
Cane molasses	8.95
Cottonseeds meal	5.05
Urea	0.50
Limestone	1.40
Trace mineral salt ^a	0.45
Nutrient composition (DM basis)	
NE, Mcal/kg	
Maintenance	2.24
Gain	1.56
Crude protein, %	12.50
Lipid, %	6.40
Calcium, %	0.68
Phosphorus, %	0.34

^aTrace mineral salt contained: CoSO₄, .068%; CuSO₄, 1.04%; FeSO₄, 3.57%, ZnO, 1.24; MnSO₄, 1.07%; KCl, .052%; and NaCl, 92.96%.

RESULTS AND DISCUSSION

Treatment effects on ruminal glucose concentration are shown in Table 2. Timing of second glucose challenges (days between first and second challenge) caused very little change in ruminal glucose concentration. This is

consistent with the results of Zinn (1994), who did not observe effect of 20% of variation in daily feed intake in feedlot, on ruminal starch digestion. As was expected, ruminal glucose increased 2 h after the glucose challenge and returned close prefeeding levels by 4 h after fed. Low levels of glucose (from 1.83 to 12.59 mg/dL) were observed during the rest of sampling times. Counotte *et al.* (1983), reported that concentrations of soluble sugars in the rumen fluid became maximal by 30 min postfeeding, but by 90 min no sugars were detectable in cows adapted to a diet of *ad libitum* hay plus 12 kg of concentrate. Furthermore, our results are in close agreement with others (Hart, 1985) who observed ruminal fluid glucose concentration ranging between 28 to 63 mg/dL. The contrasting results of the studies by Slyter (1976), and the present trial may be associated with differences in ruminal pH. Meissner and Du Preez (1996) compared several protein and energy concentrations in feedlot diets and concluded that several combinations of dietary protein, rumen degradable protein and starch will result in similar quantities of amino acids and glucose in the small intestine. At blood level, Owens *et al.* (2008) did observe an effect of either sucrose or concentrate supplementation on the mean glucose or plasma urea levels. Concentrate supplementation increased ($P < 0.001$) plasma β -hydroxybutyrate levels, while supplementation with sucrose had no effect.

Presence of elevated ruminal glucose concentration 2 h after the glucose challenge indicates that the metabolism of free glucose by ruminal microorganisms may be much slower than has been suggested (91 to 99%, Ghedalia and Salomon, 1987; Ghedalia *et al.*, 1989; or 500%/h, NRC, 1996). Effects of fluctuating energy intake on ruminal L-lactic acid level are shown in Table 3. As the laps in time between the first and second glucose challenge increased, ruminal L-lactic acid 1 h before the first and second challenge increased (linear effect, $P < 0.10$). Similar linear relationship was present at 6 and 8 h following second glucose challenge. Consistent with results of previous studies (Mackie and Gilchrist, 1981), ruminal L-lactic acid peaked at 2 h after glucose challenge. The increased levels of L-lactic acid at 2 h after second challenge occurred when time between challenges decreased from 8 to 2 days. L-lactic acid levels returned to prefeeding values 6 h later. Others workers (Telle and Preston, 1971; Kezar and Church, 1979; Nagaraja *et al.*, 1981) observed higher levels of ruminal L-lactic acid, but critical drops in rumen pH (pH < 5.00) were present. Though low pH values were observed in rumen at the time that increased L-lactic acid was observed (Tables 3 and 4), the relation of pH and L-lactic acid was not strong ($R^2 = .20$).

Table 2. Influence of treatments on ruminal Glucose (mg/dL).

	Days between glucose challenges				SEM
	1	2	3	4	
1h before 1 st challenge	44.00	34.08	33.47	29.82	6.4
1h before 2 nd challenge	32.29	45.12	40.35	34.88	9.7
Following 2 nd challenge					
2h	81.04	46.98	66.88	60.14	13.4
4h ^a	45.96	22.18	42.70	38.12	9.5
6h ^b	34.33	32.66	39.59	26.32	12.3
8h ^a	45.98	32.46	42.25	38.56	6.8
28h	43.50	46.57	51.36	40.42	3.8
52h ^a	43.44	50.13	41.60	49.43	3.1
124h	44.90	47.65	38.95	45.47	4.4
196h	37.83	46.57	43.71	46.01	8.2
268h ^c	34.34	47.31	45.59	41.72	7.4

^aCubic effect, (P <.05)^bCubic effect, (P <.10)^cLinear effect, (P <.05)

Table 3. Influence of treatments on ruminal L-lactic acid (mg/dL).

	Days between glucose challenges				SEM
	1	2	3	4	
1h before 1 st challenge ^a	9.38	10.64	15.13	16.56	2.47
1h before 2 nd challenge ^a	14.15	13.75	15.99	19.13	1.91
Following 2 nd challenge					
2h	81.20	88.13	65.66	71.76	8.72
4h	47.76	15.42	25.57	21.50	12.16
6h ^b	13.49	13.38	15.58	20.80	2.48
8h ^b	12.68	14.07	14.88	18.60	2.10
38h	15.09	13.91	16.76	19.25	1.92
52h	17.04	18.67	16.06	23.81	3.55
124h	17.41	18.14	16.96	19.86	2.64
196h	16.10	20.63	16.68	20.39	2.71
268h	14.68	16.17	16.15	19.39	2.11

^aLinear effect, (P <.10).^bLinear effect, (P <.05).

According to Bond *et al.* (1975), a lack of influence of lactic acid on ruminal pH may be due the rapid return of ruminal glucose concentration to prefeeding values (Table 2). Hence, under the conditions of this experiment lactic acid was not produced or accumulated at amounts sufficient to influence ruminal pH values, possibly due to ruminal microbial adaptation to the high concentrate diet. After 8h following the second glucose challenge, no differences (P>0.10) were observed

among treatments. Consistent with the present study, Huntington and Britton (1979) observed little variation in rumen fluid lactate of lambs after 4 days after being switched from an all-forage diet to a high-concentrate diet. Likewise, Fulton *et al.* (1976) observed low ruminal lactate concentrations in steers fed a high-wheat finishing diet. The small increase in lactate concentration observed with treatment 4, without significant fall of the ruminal pH, may reflect the

complete return of the rumen to normal conditions. Because a ruminal pH of less than 5.0 increases markedly increases growth of lactic acid producing bacteria (Suda *et al.*, 1995), maintenance of ruminal pH above 5.0 should be considered a "critical point" if we wish to maintain the ruminal physiological conditions within a normal range.

Treatment effects on ruminal pH are shown in table 4. After the first challenge, ruminal pH increased (linear effect, $P < 0.05$). Differences in ruminal pH 1 h before the first and second challenge decreased from 13% for treatment 1 to 4% for treatment 4. Ruminal pH after the second glucose challenge was not affected by treatment. Others (Muir *et al.*, 1981; Nagaraja *et al.*, 1981) have reported markedly lower ruminal pH values following a high-energy challenge. Consistent with Muir *et al.* (1981), ruminal pH dropped during the first 5 to 6 h following the second glucose challenge. Ruminal pH values observed at 1200 h for all treatments are considered within the normal (not indicative of subacute acidosis) and expected range following a feeding bout, notwithstanding a glucose challenge. Ruminal pH tended to stabilize at 8 hours *postprandium*, approximately, and remained lower than prefeeding values the rest of the sampling periods. There were not significant differences ($P > 0.10$) between treatments

during the subsequent sampling times. Others (Huntington and Britton, 1979) have observed critical ruminal pH values (4.48), or observed lower ruminal fluid pH values during four days following a high-energy challenge (Kezar and Church, 1979). Effects of fluctuating high-energy feed intake in feedlot cattle are similar to those observed in dairy cows (Malestein *et al.*, 1984), or in sheep and goat (Mirgani and Bakhit, 1990). Irwin *et al.* (1979) observed that after 58 h of the administration of glucose (11 g kg⁻¹ BW), the rumen was unable to restore pH to that of initial pH level in ewes fed pasture. In the present study, within 8 hours following the second glucose challenge, ruminal pH for all treatments returned to values consistent with that observed 4 h after feeding during the subsequent 10 d of sampling. Similar responses to variable energy intake have been reported by Zinn (1994), who observed no influence of a 20% variation in daily feed intake on ruminal pH in steers fed a high-concentrate diet. Likewise, no relationship was observed ($P > 0.10$) between pH and ruminal L-lactic acid, osmolality, or glucose concentration. Results demonstrate that as the time between about of readily available energy intake fluctuation increases, the adaptive response to the challenge is enhanced.

Table 4. Influence of treatments on ruminal fluid pH

	Days between glucose challenges				SEM
	1	2	3	4	
1h before 1 st challenge	6.53	6.46	6.52	6.54	0.07
1h before 2 nd challenge ^a	5.76	6.12	6.06	6.26	0.11
Following 2 nd challenge					
2h	5.33	5.44	5.38	5.21	0.10
4h	5.45	5.36	5.58	5.57	0.15
6h	5.39	5.55	5.68	5.86	0.16
8h ^a	5.64	5.59	5.85	6.05	0.14
28h ^b	5.56	5.81	5.46	5.71	0.09
52h	5.66	5.53	5.60	5.49	0.06
124h	5.49	5.28	5.55	5.63	0.15
196h	5.57	5.47	5.61	5.63	0.13
268h	5.63	5.52	5.50	5.84	0.10

^aLinear effect, ($P < 0.05$)

^bCubic effect, ($P < 0.10$).

Treatment effect on ruminal total volatile fatty acids (TVFA) are shown in table 5. Ruminal TVFA concentration tended to decrease (linear effect, $P < 0.10$) 1 h before the second glucose challenge with increasing days between challenge. Otherwise, there were not treatment effects on ruminal TVFA. Likewise, Zinn (1994), did not observed an effect of a 20% of variation of intake on ruminal VFA. Uhart and Carroll (1967) observed that when steers were suddenly switched for an all forage to a high concentrate diet, ruminal pH dropped below 5.00 and ruminal lactic acid approached 100 mg/dL. In their study, feed intake and ruminal TVFA did not stabilize to a normal level for approximately 6 days. In the present study, ruminal TVFA explained very little ($R^2 = 0.20$) of the variation in ruminal lactic acid concentration. Wilson *et al.* (1975) attributed this lack of relationship to a decline in fermentation and changes in dilution rates. Gaebel *et al.* (1987) suggested that the lack of relationship between TVFA and lactic acid concentration might be also attributable to increased ruminal fluid osmolality. In contrast, ruminal TVFA was more closely associated ($R^2 = 0.69$) with ruminal pH. Indeed, it is expected that ruminal TVFA concentration is the principal factor modulating pH when ruminal pH is 5.5 or greater (Van Campen., 1986; Schoonmaker, et al., 2003).

Treatment effect on ruminal fluid osmolality are shown in table 6. Changes in ruminal osmolality are important as they may impact ruminal liquid dilution rate (Zhao *et al.*, 1995) and VFA absorption rate (Lopez *et al.*, 1994). Greater ruminal osmolality was observed with treatment 1 following the first challenge. However, the response was not constant. There tended to be a quadratic effect of treatment on osmolality ($P < 0.10$) at two and four hours following the second glucose challenge, with greater osmolality observed with treatment 2 and lower values observed for treatment 4. Ruminal osmolality is expected to increase postprandially as a result of salt intake and VFA production (Garza *et al.*, 1989; Kapoor and Puri, 1994). Telle and Preston (1971) observed that ruminal osmotic pressure increased as ruminal lactic acid concentration increased. In contrast, in the present study ruminal lactate concentration explained very little ($R^2 = 0.20$) of the variation in ruminal osmolality. Likewise, ruminal TVFA explained very little of the variation ($R^2 = 0.36$) in ruminal osmolality. Kezar and Church (1979), observed that in the event of hypertonicity, ruminal chyme is characteristically yellowish-green in color with very low viscosity. These effects were not apparent in the present study.

Table 5. Influence of treatments on ruminal total volatile fatty acids (mmol/mol).

	Days between glucose challenges				SEM
	1	2	3	4	
1h before 1 st challenge	76.39	81.48	81.14	82.12	4.2
1h before 2 nd challenge ^a	109.06	99.40	102.93	90.59	4.8
Following 2 nd challenge					
2h	107.69	123.49	122.71	113.74	1.1
4h	110.74	116.80	125.16	116.55	.01
6h	110.18	107.32	121.21	105.73	1.2
8h	114.31	110.79	108.39	95.08	.08
28h	113.65	125.59	124.36	116.83	1.4
52h	116.63	134.90	119.52	123.59	.08
124h	114.63	135.05	100.70	117.84	1.6
196h	120.90	130.57	114.31	130.12	1.2
268h	113.97	112.46	129.79	117.92	1.3

^aLinear effect, ($P < 0.10$)

Table 6. Influence of treatments on ruminal osmolality (mOsmol/kg)

	Days between glucose challenges				SEM
	1	2	3	4	
1h before 1st challenge	351	349	358	340	26
1h before 2nd challenge	403	378	371	373	15
Following 2nd challenge					
2h ^a	412	458	411	380	19
4h	390	418	374	394	31
6h	380	373	391	343	31
8h ^a	372	393	372	332	13
38h	382	385	435	387	14
52h	381	424	377	398	39
124h	412	394	340	398	44
196h	386	409	385	442	25
268h	415	362	420	416	19

^aQuadratic effect, (P <.10)

Treatment effect on ruminal total protozoa are shown in table 7. No effects (P >0.10) of treatments were observed during most of the sampling times. The small effect registered on days 7 and 13 are nevertheless within the normal expected range (Allison, 1976). Although, compared with one hour before the first glucose challenge, ruminal protozoal counts one hour before the second challenge decreased 107 and 68% with treatment 1 and 2, respectively, and increased 33 and 52% with treatments 3 and 4, respectively. Consistent with (Counotte *et al.*, 1983), the data clearly demonstrate that ruminal protozoa population is able to recover within 3 days following an initial challenge, but

not following the second challenge. As previously reported (Dehority and Males, 1974; Allison, 1976), maximum numbers occurred just prior to feeding, then decrease rather rapidly and remain quite low for the following hours. Consistent with Nikolov (1966), protozoa counts were positively associated ($R^2 = 0.55$) with ruminal pH. Numerous studies (Slyter *et al.*, 1970; Slyter, 1976; Gabel, 1990; Suda *et al.*, 1994) have likewise demonstrate that ruminal protozoal counts are markedly reduced or eliminated during lactic acidosis. Ruminal protozoal counts were not directly associated (P>0.10) with ruminal fluid osmotic pressure, as reported by Dehority and Males (1974).

Table 7. Influence of treatments on ruminal total protozoa (nx10⁵/ml)

	Days between glucose challenges				SEM
	1	2	3	4	
1h before 1 st challenge	16.8	9.6	12.0	8.4	3.1
1h before 2 nd challenge	8.1	5.7	16.0	12.7	4.9
Following 2 nd challenge					
2h	4.7	2.6	8.3	9.4	2.8
4h	3.6	1.7	7.6	9.2	2.7
6h	2.9	1.9	7.6	6.2	2.1
8h	4.3	2.0	8.1	6.0	2.0
28h	6.4	2.2	6.2	8.7	2.0
52h	6.5	3.1	7.4	5.2	2.3
124h ^a	5.8	1.6	6.9	2.3	1.9
196h	7.6	4.1	5.6	8.7	2.0
268h ^b	5.2	1.7	6.7	11.3	2.6

^aCubic effect, (P <.10)

^bQuadratic effect, (P <.05)

CONCLUSIONS

Ruminal alterations are magnified as the time between glucose challenge decreases. However, the gradual increase in ruminal pH, L-lactic acid, and total protozoa indicated that within approximately 7 days after fluctuation in feed intake the conditions in the rumen are stabilizing, and are better capable of supporting a subsequent challenge.

REFERENCES

- Allison, M.J. 1976. Population control in the rumen and microbial adaptation to dietary change, in: *Buffers Ruminant Physiology and Metabolism*, p 10-18. Church & Dwight Company, Inc. New York, New York.
- Bond, J., Slyter, L.L., and Rumsey, T.S. 1975. Fasting and refeeding of forage and concentrate diets to cattle. *Journal of Animal Science*. 41:392. (Abstr.)
- Britton, R.A., and Stock, R.A. 1987. Acidosis, rate of starch digestion and intake. In: F. N. Owens (Ed.) *Symposium Proceedings: Feed Intake by Feedlot Cattle*, Oklahoma Agric. Exp. Sta. MP-121:125.
- Counotte, G.H.M., Lankhorst, A., and Prins, R.A. 1983. Role of DL-lactic acid as an intermediate in rumen metabolism of dairy cows. *Journal of Animal Science*. 56:1222-1235.
- Dehority, B.A., and Males, J.R. 1974. Rumen fluid osmolality: Evaluation of its influence upon the occurrence and numbers of holotrich protozoa in sheep. *Journal of Animal Science*. 38:865-870.
- Fulton, W.R., Klopfenstein, T.J., and Britton, R.A. 1976. Adaptation to high concentrate diets by beef cattle. Adaptation to corn and wheat diets. *Journal of Animal Science*. 79:775-784.
- Gaebel, G., Suendermann, M., and Martens, H. 1987. The influence of osmotic pressure, lactic acid and pH on ion fluid absorption from the washed and temporarily isolated reticulo-rumen of sheep. *Journal of Veterinary Medicine* 34:220-226.
- Gabel, G. 1990. Rumen acidosis: interactions between changes in the lumen and the rumen wall. *Ubersichten-zur-Tierernahrung*. 18:11-38.
- Galyean, M.L., Malcolm-Callis, K.J., Gracia, D.R., and Pulsipher, G.D. 1992. Effect of varying the pattern of feed consumption on performance by programmed-fed beef steers. *Clayton Livestock Research Center. Prog. Rep.* 75:1.
- Garza, J.D., Owens, F.N., and Breazile, J.E. 1989. Effects of diet on ruminal liquid and on blood serum osmolality and hematocrit in feedlot heifers. *Animal Science Research Report*. Oklahoma State University. MP-127, 68-76.
- Ghedalia, B.D., and Salomon, R. 1987. The effect of dietary barley on carbohydrate digestibility of sulphur dioxide-treated wheat straw by sheep. *Animal Feed Science And Technology*. 18:55-66.
- Ghedalia, B.D., Yosef, E., Miron, J., and Est, Y. 1989. The effects of starch -and pectin- rich diets on quantitative aspects of digestion in sheep. *Animal Feed Science and Technology*. 24:289-298.
- Hart, S.P. 1985. Associative effects on sorghum silage and sorghum grain. *Journal of Animal Science* 61:Suppl. 1, 343-344.
- Hicks, C.R. 1973. *Fundamental concepts in the design of experiments*. Holt, Rinegart and Winston, Ney York.
- Huntington, G.B., and Britton, R.A. 1979. Effect of dietary lactic acid on rumen lactate metabolism and blood acid-base status of lambs switched from low to high concentrate diets. *Journal of Animal Science*. 49:1569-1576.
- Irwin, L.N., Mitchell, Jr., G.E., Tucker, R.E., and Schelling, G.T. 1979. Histamine, tyramine, tryptamine and electrolytes during glucose induced lactic acidosis. *Journal of Animal Science*. 48:367-374.
- Kapoor, P.D., and Puri, V. 1994. Rumen fluid osmolality with different feeding regimes in buffalo. *Livestock-Adviser. India*. 19:30-33.
- Kezar, W.W., and Church, D.C. 1979. Effect of thiopeptin and sodium bicarbonate on the prevention of lactic acidosis induced in sheep. *Journal of Animal Science*. 49:1396-1402.
- Lopez, S., Hovell, F.D., and MacLeod, N.A. 1994. Osmotic pressure, water kinetics and volatile fatty acid absorption in the rumen of sheep sustained by intra gastric infusions. *British Journal of Nutrition*. 71:153-168.
- Mackie, R.I., and Gilchrist, F.M.C. 1981. Stepwise adaptation of sheep fed *ad libitum* a high concentrate and its effect on ruminal pH and lactic acid concentration. *South African Journal of Animal Science*. 11:229-236.

- Malestein, A., van. Klosster, A.T., Prins, R.A., and Connote, G.H M. 1984. Concentrate feeding and ruminal fermentation. 3. Influence of concentrate on pH, on DL-lactic acid concentration in rumen fluid of dairy cows and on dry matter intake. *Netherlands Journal of Agricultural Science*. 32:9-21.
- Meissner, H.H., and Du Preez H.P.F. 1996. Ruminal and postruminal digestion of dietary protein and starch in steers. Effects of protein concentration, degradation of protein and energy content of the diet. *South African Journal of Animal Science* 2659-65.
- Mirgani, T., and Bakhit, S.M.A. 1990. Effect of intraruminal administration of molasses on blood glucose concentration and rumen VFA concentrations in camels, sheep and goats. *World Review of Animal Production*. 25:81-84.
- Muir, L.A., Duquette, P.F., Rickes, E.L., and Smith, G.E. 1980b. Thiopeptin for the prevention of ovine lactic acidosis induced by diet change. *Journal of Animal Science*. 51:1182-1188.
- Muir, L.A., Rickes, E.L., Duquette, P.F., and Smith, G.E. 1981. Prevention of induced lactic acidosis in cattle by thiopeptin. *Journal of Animal Science*. 52:635-643.
- NRC, 1996. *Nutrient Requirement of Beef Cattle*. 7th Edition, National Academy of Sciences, Washington DC.
- Nagaraja, T.G., Avery, E.E. Bartley, S.J., and Dayton, A.D. 1981. Prevention of lactic acidosis in cattle by lasalocid or monensin. *Journal of Animal Science*. 53:206-216.
- Nikolov, Y. 1966. Clinical experimental studies on acute rumen acidosis in buffaloes (*Bubalus bubalis* L.) I. Influence of acute rumen acidosis on ruminal function. *Trachia University, Stara Zagora, Bulgaria. Veterinarski-Archiv*. 66:147-154.
- Owens, F.N., Secrist, D.S., Hill, W.J., and Gill, D.R. 1998. Acidosis in cattle: A review. *Journal of Animal Science*. 76:275-286.
- Owens, D., McGee M., Boland T., and Kiely P.O. 2008. Intake, rumen fermentation and nutrient flow to the omasum in beef cattle feed grass silage fortified with sucrose and /or supplemented with concentrate. *Animal Feed Science and Technology*. 144:23-43.
- Schoonmaker, J.P., Cecava, M.J., Faulkner D.B., Fluharty F.L., Zerby H.N., and Loerch S.C. 2003. Effect of source of energy and rate of growth on performance, carcass characteristics, ruminal fermentation, and serum glucose and insulin of early-weaned steers. *Journal of Animal Science*. 81:843-855.
- Sigma Diagnostics. Procedure No. 826-UV. Previous Revision: Mar. 1989; Revised: Oct. 1990.
- Slyter, L.L., Oltjen, R.R., Kern, D.L., and Blank, F.C. 1970. Influence of type and level of grain and diethylstilbestrol on the rumen microbial populations of steers fed all-concentrate diets. *Journal of Animal Science*. 31:996-1002.
- Slyter, L.L. 1976. Influence of acidosis on rumen function. *Journal of Animal Science*. 43:910-929.
- Stock, R.A., Laudert, S.B., Stroup, W.W., Larson, E.M., Parrot, J.C., and Britton, R.A. 1995. Effect of monensin and monensin and tylosin combination on feed intake variation of feedlot steers. *Journal of Animal Science*. 73:39-44.
- Soto, S.A., Duff, G.C., Malcolm-Callis, K.J., and Krehbiel, C.R. 1998. Influence of rate of gain and feed intake fluctuation on performance in limit-fed steers. In: *Plains Nutrition Council Spring Conference*. Texas A& M Rech. And Ext. Center. Amarillo, TX. No. AREC 98-24. pp. 100.
- Suda, K., Hiramatsu, M., and Motoi, Y. 1994. Changes on ruminal flora and endotoxin concentration in acidosis steers induced by sucrose injection. *Animal Science and Technology*. 65:1143-1149.
- Suda, K., Hiramatsu, H., Kobayashi, Y., Motoi, Y., Wakita, M., and Hoshino, S. 1995. Effects of ionophores on lactate and endotoxin production in the in vitro incubation of ruminal fluid. *Animal Science and Technology*. 66:869-874.
- Telle, P.P., and Preston, S. 1971. Ovine lactic acidosis: intraruminal and systemic. *Journal of Animal Science*. 33:698-705.
- Tremere, A.W., Merrill, W.G., and Loosli, J.K. 1968. Adaptation to high concentrate feeding as related to acidosis and digestive disturbances in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*. 51:1065-1072.
- Uhart, B.A., and Carroll, F.D. 1967. Acidosis in beef steers. *Journal of Animal Science*. 26:1195-1198.
- Van Campen, D. 1986. Effects of buffers on ruminal acids. In: M. S. Weinberg (Ed) *Symposium Proceeding: Buffers in Ruminant Physiology and Metabolism*, University of Arizona, Tucson. pp 82:95.

- Vogel, G.J., and Parrot, C. 1994. Mortality survey in feedyards: the incidence of death from digestive, respiratory, and other causes in feedyards on the great plains. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 16:227-234.
- Wilson, J.R., Bartley, E.E., Anthony, H.D., Brent, B.E., Sapienza, D.A., Chapman, T.E., Dayton, A.D., Milleret, R., Frey, R.A., and Meyer, R.M. 1975. Analysis of rumen fluid from "suddendeath", lactic acidotic and healthy cattle fed high concentrate ration. *Journal of Animal Science*. 41:1249-1255.
- Zhao, G.Y., Duric, M., Macleod, N.A., Orskov, E.R., Hovell, F.D., and Feng, L. 1995. The use of intra gastric nutrition to study saliva secretion and the relationship between osmotic pressure and water transport. *Journal of British Nutrition*. 73:155-161.
- Zinn, R.A. 1987. Programming feed intake to optimize performance of feedlot cattle. In: F. N. Owens (Ed.) *Symposium Proceedings: Feed Intake by Feedlot Cattle*, Oklahoma Agric. Exp. Sta. MP-121:290.
- Zinn, R.A. 1990. Influence of flake density on the comparative feeding value of steam-flaked corn for feedlot cattle. *Journal of Animal Science*. 68:767-775.
- Zinn, R.A. 1991. Comparative feeding value of steam-flaked corn and sorghum in finishing diets supplemented with or without sodium bicarbonate. *Journal of Animal Science*. 69:905-916.
- Zinn, R.A. 1994. Influence of fluctuating feed intake on feedlot cattle growth-performance and digestive function. In: *Proc. Southwest Nutrition and Management Conference*, University of Arizona, Tucson. pp. 77-83.

Submitted May 10, 2013 – Accepted August 10, 2016