



Artículo de investigación

Estimación del balance de metionina y lisina metabolizable en vacas de leche en pastoreo

Mónica Duque-Quintero¹ Dr.Sci.Anim; Ricardo Rosero-Noguera² Dr.Sci.Agr;
Martha Olivera-Angel^{1*} Dr.Sci.Agr.

¹University of Antioquia, College of Veterinary Medicine, Biogénesis Research Group. Carrera 75 # 65–87 Medellín, Colombia.

²University of Antioquia, College of Agricultural Sciences. Agro Sciences Research Group–GRICA. Carrera 75 # 65–87 Medellín, Colombia

*Corresponding author: martha.olivera@udea.edu.co

Recibido: Diciembre 2018; Aceptado: Marzo 2019; Publicado: Septiembre 2019.

RESUMEN

Objetivos. El objetivo de este trabajo fue estimar en vacas en pastoreo, tanto la reproducibilidad como la precisión del balance de metionina (Met) y lisina (Lis), aminoácidos más limitantes en la producción de leche, cuando se comparan los valores predichos versus los valores observados. **Materiales y métodos.** Se usaron 12 vacas durante un periodo de 20 días. Control: animales pastoreando y suplementados con alimento balanceado; Met-Lis: igual al control y el suplemento se ajustó con Lis y Met protegida. Para los valores predichos para la suplementación de Met y Lis, se tuvo en cuenta el promedio del consumo de materia seca (CMS) del hato, basado en la oferta y el consumo de pasto y los valores de proteína microbiana. Los valores observados se determinaron con base en el CMS individual usando marcadores externos e internos, además, la producción individual de proteína microbiana. Se realizó una prueba de tpareada y un modelo de predicción para determinar la eficiencia fue determinado usando el error cuadrático medio de predicción (ECMP) y el coeficiente de concordancia (CCC). **Resultados.** Se encontraron diferencias significativas entre la suplementación y el balance de Met y Lis, entre los valores predichos y los valores observados para el CMS del forraje, la digestibilidad de la proteína microbiana, la producción de proteína microbiana, el suministro y el balance de Lis y Met. El CCC del balance de Lis y Met fue bajo (0.10), el ECMP fue alto, excepto para el CMS, que tuvo una concordancia moderada (0.63) y un bajo ECMP (4.42). **Conclusiones.** Estos resultados demuestran la falta de precisión de las herramientas que se usan para balancear las raciones individuales de vacas en pastoreo, ya que subestiman la suplementación y el balance de los aminoácidos.

Palabras clave: Estimación, aminoácidos esenciales, pastoreo, proteína microbiana, validación. (Fuente: CAB Thesaurus, Tesauro SPINES).

ABSTRACT

Objective. The aim of this study was to determine in grazing cows, the reproducibility and accuracy of the balance between predicted values, when compared with the observed values for the most limiting amino acids in milk protein synthesis, the methionine (Met) and Lysine (Lys). **Materials and methods.** Twelve lactating cows were used for a 20-day experimental period. Control: animals grazing and supplemented with balanced food; Met-Lys: same as control and supplemented with adjusted rumen protected Met and Lys. For Met and Lys supply predicted values, it was taking in account the average of the dry matter intake (DMI) of the herd, based in offer and foraging control and values of microbial protein data. Observed

Como citar (Vancouver).

Duque-Quintero M, Rosero-Noguera R, Olivera-Angel M. Estimación del balance de metionina y lisina metabolizable en vacas de leche en pastoreo. Rev MVZ Córdoba. 2019; 24(3):7346-7354. DOI: <https://doi.org/10.21897/rmvz.1461>



©El (los) autor (es), Revista MVZ Córdoba 2019. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

values were determined based in the individual DMI intake, using external and internal markers and the individual microbial protein production. A t-paired-sample test was performed and the efficiency of the model's prediction was determined using the mean square prediction error (MSPE) and the concordance coefficient (CCC). **Results.** Significant differences were found between the predicted and observed values for DMI forage, digestible microbial protein and microbial protein production, supply and the balance of Lys and Met. The CCC for Lys and Met balance were low (0.10), the MSPE was high except for the total DMI with a moderate concordance (0.63) and low MSPE (4.42). **Conclusions.** These results indicate a lack of precision of the tools, which underestimates the supply and balance of amino acids in individual grazing cows.

Keywords: Estimation, essential amino acids, grazing, microbial protein, validation (Source: CAB Thesaurus, Tesouro SPINES).

INTRODUCCIÓN

La producción de la proteína láctea es el centro de atención de productores y nutricionistas, dado que el precio beneficia esta cantidad. Los ruminantes derivan su suministro intestinal de proteína y aminoácidos de a) proteína no degradable en rumen (PND), b) proteína microbiana sintetizada en el rumen y c) proteína de secreción endógena. Los sistemas de alimentación del ganado de leche, tales como el Consejo Nacional de Investigación (NRC, por sus siglas en inglés) (1) y el sistema de carbohidratos y proteína neta de Cornell (CNCPS, por sus siglas en inglés) (2), usan modelos matemáticos para predecir los requerimientos de los animales, la proteína metabolizable (PM), y los aportes de aminoácidos (AA).

La lisina (Lis) y la metionina (Met) son consideradas los AA más limitantes para la síntesis de la proteína láctea (3-6). El programa Amino Cow (AC) (versión 3.5.2), una herramienta de acceso gratuito y de fácil uso para determinar el balance de Met y Lis en la alimentación de bovinos (7), permite predecir la cantidad (gramos) de Met y Lis que fluye hacia el intestino delgado (ID) y determinar su balance. Este programa usa valores predichos a partir de distintos datos obtenidos de dietas con raciones mezcladas. Sin embargo, estos datos se usan para animales confinados, y no se calculan para sistemas de animales en pastoreo, como es el modelo en Colombia, debido a la falta de datos como el consumo individual de materia seca del pasto y su producción de proteína microbiana (PMicrob).

El objetivo de este trabajo fue estimar tanto la reproducibilidad como la precisión de los valores predichos del programa Amino Cow, en comparación con los valores observados en el área, evaluados en animales para el balance de metionina y lisina en vacas en pastoreo, que nosotros tomamos como valores de referencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación. El trabajo experimental se llevó a cabo en una granja ubicada en Colombia en las coordenadas 6°40'57, 9"N 75°28'23, 8"W a 2550 de altura, con una temperatura promedio de 14°C, 79% de humedad relativa y una precipitación anual promedio de 2500 mm.

Gestión y alimentación. Las vacas de leche se manejaron en un sistema de pastoreo rotativo con franjas de pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). El agua y la sal mineral se encontraban disponibles *ad libitum*.

Animales. Se mantuvieron 12 vacas de leche multíparas en lactación media alimentadas con pasto kikuyo en pastoreo por un periodo experimental de 20 días. La producción promedio de leche fue de 24,0±4,76 L/día (media ± desviación estándar, DE). El peso vivo maduro de las vacas fue de 580±31,8 kg. Los días en leche promedio (DEL) fueron 126±14,37 días. Las vacas de leche se asignaron aleatoriamente a uno de los siguientes grupos de tratamiento: Control: animales en pastoreo de pasto kikuyo en franjas con cerca eléctrica, suplementados con un concentrado de alimento balanceado; Met-Lis: animales en pastoreo de pasto kikuyo, suplementados con un concentrado de alimento balanceado y el suministro de aminoácidos protegidos contra el rumen (Met y Lis).

La composición química de los piensos evaluados se muestra en la tabla 1. El programa AminoCow (7) se usó para estimar los requerimientos de aminoácidos. El programa mostró que los suministros dietarios generan una deficiencia del 29,7% y 20,5% de metionina y lisina, respectivamente. Para el grupo experimental, se agregó metionina protegida contra el rumen (Mepron®, Evonik, Degussa AG, Alemania) y lisina protegida contra el rumen (AjiPro™-L Ajinomoto, Tokio, Japón) en la dieta de las vacas. Para ello, se

liberaran dentro del intestino delgado 7.03+2.93 g de metionina y 23.9+3.82 g de lisina. Las vacas recibieron la dieta experimental desde el día 0 al 20 de experimentación.

Tabla 1. Composición química de los piensos evaluados.

	Kikuyo	Concentrado	MetPR	LisPR
CMS, %	10.9	90.2	98.2	97.4
PC, % MS	18.2	17.1	43.9	56.3
NDT, % MS	60.4 ³	76.0 ³		
EE, % DM	3.12	3.9	1.00 ¹	42.7
FDN, % DM	56.4	21.8	3	
FDA, % DM	31.4	16.5		
LDA, % DM	6.35	3.83		
PCIDN, % DM	1.8	1.1		
CNE, % DM	11.4	47.2		
ENL(Mcal/Kg DM)	1.36	1.77	1.94 ¹	3.26 ²
Geniza, % DM	10.9	10	1.50 ¹	
Calcio, % DM	0.34			
Fósforo, % DM	0.31			
Lecitina de Soya, % MS				1.00 ²
Met, % MS	0.31	0.58	45.3	
Lis, % de MS	0.95	1.09		37.7

^{1,2} Valores de referencia informados por Trading Company, ³ Valores estimados usando el modelo sumativo establecido por Weiss et al (1992) (8), MetPR: Metionina protegida contra el rumen (Mepron), LisPR: Lisina protegida contra el rumen (AjiPro-L), CMS: Consumo de materia seca, PC: Proteína cruda, NDT: Nutrientes digestiblestotales, EE: Extracto de éter, FDN: Fibra detergente neutro, FDA: Fibra detergente ácido, LDA: Lignina detergente ácido, PCIDN: Proteína cruda insoluble en detergente neutro, CNE: Carbohidratos no estructurales = 100 - (%FDN+ %PC + % EE + % Geniza), ³ENL: Energía neta de lactancia (mcal/kg) = 0,0245 *NDT(%) - 0,12, Met: Metionina, Lis: Lisina

Balances predichos y observados de Met y Lis. Para obtener el balance de metionina y lisinase usa la ecuación: Balance de Met o Lis = suministro de AA - requerimientos de AA. Para los balances predichos y observados de Met y Lis, los requerimientos son los mismos (Tabla2), pero el suministro es diferente.

Tabla 2. Cálculo de los requerimientos de metionina (Met) y lisina (Lis) para vacas lactantes en el experimento.

Met	Lis
METmant = 0.0272 x (VP ^{0.75})	LISmant = 0.0932 x (VP ^{0.75})
METleche = Producción de leche x g/ kg de PC proteína láctea x 0.38572	LISleche = Producción de leche x g/ kg deCP proteína láctea x 1.16072
METrec = factor de ganancia x 13.3	LYSgrow = Factor de ganancia x 46
METreq = METmant + METleche + METrec	LISreq = LISmant + LISleche + LISrec
Factor de ganancia de crecimiento = PVmaduro - PVvaca/365 - días en leche	
PVmaduro = 580 kg	

METmant: Requerimientos de metionina para el mantenimiento, METleche: Requerimientos de metionina para la producción de leche, METrec: Requerimientos de metionina para el crecimiento, METreq: Requerimiento total de metionina, LISmant: Requerimientos de lisina para el mantenimiento, LISleche: Requerimientos de lisina para la producción de leche, LISrec: Requerimientos de lisina para el crecimiento, LISreq: Requerimiento total de lisina, CP: Proteína cruda.

Estimación del suministro de Met y Lis. Para el suministro predicho, el consumo de pasto promedio y PMicrob fueron calculados por el NRC (1), y para el suministro observando se calcularon contenido derivado de purinas y la creatinina.

Estimación de los requerimientos de Met y Lis. Los requerimientos de estimación individual para el mantenimiento, la producción de leche y el crecimiento corporal (Tabla 1) se calcularon con base en el peso vivo (PV), los días en leche, la edad, la producción de leche y el porcentaje de proteína (%). Las mediciones se ingresaron en el programa AC (7).

Aporte predicho de aminoácidos que llega al ID. La cantidad se estimó a partir de: a) la proteína no degradable en rumen (PND), b) la proteína de secreción endógena (PE) y c) la proteína microbiana sintetizada en el rumen (PMicrob).

Valores predichos y observados de Met y Lis del aporte de PND in vivo. Se estimó el suministro de Met y Lis de PNDal ID y su porcentaje de digestibilidad intestinal de aminoácidos antes del comienzo del experimento. Se determinaron los perfiles de proteínas y aminoácidos en el pasto kikuyo, así como también en el pienso balanceado comercial, tanto antes como después de la incubación ruminal 27.4 h, de acuerdo con Duque et al (9) (tasa de pasaje de material sólido 0.0365 h⁻¹), y, finalmente, en heces después de la digestibilidad intestinal.

El aporte final se obtuvo tal como se indica en la siguiente fórmula:

$$PND(\%) = \left[\frac{\text{g de MSen residuo ruminal} \times \% PCen \text{ residuo ruminalde alimento incubado}}{\text{g de MS incubado en rumen} \times \% PC \text{ en el alimento}} \times 100 \right] \times \% PCDI$$

PND de las fuentes = (PNDde kikuyo x CMSde kikuyo) + (PND de alimento concentrado* CMS de alimento concentrado).

PND: Proteína no degradable en rumen (%), MS: Materia seca (g), CP: Proteína cruda (%), PCDI: Proteína cruda digestible en el intestino (%), CMS: Consumo de materia seca (g).

Met y Lis del aporte de PE predicho y observado. Los valores predichos de consumo de forraje se estimaron a partir del volumen de pasto en la franja asignada antes y después del pastoreo, y a partir de la cantidad (kg) de alimento balanceado servido. Se tuvo en cuenta la MS dietaria menos la MS dietaria denegada. El marcador interno que usado fue lignina detergente ácido (LDA) y el marcador externo fue el óxido de cromo (10).

Se calcularon los valores observados:

$$\begin{aligned} PE &= 11.87 \text{ g/kg} \times \text{CMS (kg) de alimento} \\ PE \text{ Met} &= 0.11 \text{ g/kg} \times \text{CMS (kg) de alimento} \\ PE \text{ Lis} &= 0.40 \text{ g/k} \times \text{CMS (kg) de alimento} \end{aligned}$$

PE: Proteína endógena (g), PE Met: Proteína endógena producida por metionina(g), PE Lis: Proteína endógena producida por lisina. El valor asumido para la digestibilidad endógena de aminoácidos fue del 80%, ya que es el valor que el programa AminoCow asume de forma predeterminada.

Met y Lis del aporte predicho de PMicrob. El aporte se basó en el consumo de materia seca del forraje (CMSf) y la PMicrob estimados de la siguiente forma:

La cantidad ofrecida fue de 2.3 kg de forraje verde/m², y el residuo después del pastoreo fue mayor al 40%. Entonces, el estimado de consumo de forraje fue de 13 kg MS/vaca/día.

La PMicrob sintetizada se calculó usando la fórmula del NRC (1), según se indica en la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned} \text{PMicrob (g/d)} &= (0.3 \times \text{NDTconsumido (kg)} \times 1000) \\ \text{NDTconsumido (kg)} &= \text{kg MSconsumida} \times \% \text{ NDT} \end{aligned}$$

NDT: Nutrientes digestibles totales, MS: Materia seca. Los valores de NDT para el suplemento y el forraje fueron 76 y 60.4%, respectivamente. EL NDT del forraje se estimó mediante el modelo descrito por Alvarenga et al (11).

Met y Lis del aporte observado de PMicrob. Estimación de CMSf en el sistema de pastoreo.

El periodo experimental fue de 20 días; los primeros 14 días fueron para la adaptación a la dieta; los días 18, 19 y 20 fueron para la recolección de muestras de forraje, orina y heces. El flujo de aminoácidos al ID se realizó mediante la cuantificación del consumo de forraje a través de óxido de cromo (Cr₂O₃) como marcador externo y LDA (12) como marcador interno. El óxido de cromo se administró por vía oral en dosis de 5 g dos veces al día (en el ordeño de la mañana y la tarde).

El procedimiento se realizó durante 9 días, lo que corresponde al día 12 después del comienzo del periodo experimental: durante los primeros 6 días, se obtuvo el equilibrio del consumo y la excreción del marcador y, a partir del día 7, se llevó a cabo la recolección de heces dos veces al día, en el ordeño de la mañana y la tarde.

Las muestras se tomaron en forma manual directamente del recto (250 g por muestra) y se congelaron hasta que fueron necesarias. Por último, se mezclaron y se obtuvo una única

muestra para cada vaca. Estas muestras se secaron a 60°C por 72 horas y se conservaron hasta que se determinaron los contenidos de MS, LDA (13) y cromo mediante un espectrómetro de absorción atómica, de acuerdo con la metodología descrita por Souza et al (2013)(14). El CMS del alimento concentrado se cuantificó pesando el alimento cada vez que el animal llegaba a la estación de ordeño.

La producción fecal y el consumo de MS del forraje se estimaron con el uso de la fórmula (11).

$$PF \text{ ((g MS/vaca)/d)} = \frac{(\text{Cromo administrado, g/d})}{\text{Concentración de cromo en heces, g/g MS}}$$

Donde PF = Producción fecal, g de MS/día

$$\text{CMSf (kg/vaca/d)} = \frac{(\text{LDAheces} \times \text{FP}) - (\text{LDAc} \times \text{CMSc})}{\text{LDAf}}$$

CMSf = Consumo de materia seca del forraje, kg/vaca/día, PF = Producción fecal total, kg MS/día, LDA heces = Lignina detergente ácido encontrada en animales, %, LDAc = Lignina detergente ácido del alimento concentrado, %, CMSc = Consumo de materia seca del alimento concentrado, kg/vaca/día, LDAf = Lignina detergente ácido del forraje. Se asumió una tasa de recuperación de cromo en heces del 80% (12). El CMS del total se determinó como el CMS total (CMSt) más el CMS del suplemento.

Estimación de PMicrob. Se recolectaron muestras de orina durante los días 18, 19 y 20, de acuerdo a Fagundes et al (15). Los derivados de purina se estimaron según Faleiro et al (16) y Castro-Montoya et al (17). Cada muestra de orina se filtró brevemente y 5 mL se diluyeron de forma inmediata en 45 ml de 0.036 N de ácido sulfúrico, divididos en muestras de 50 ml y almacenados a -20°C. Se realizaron análisis de creatinina y ácido úrico con el uso del método colorimétrico descrito por Escobar et al (18) y se midió la alantoína mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC, por sus siglas en inglés), tal como lo describe Vlassa et al (19) en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la Universidad Nacional de Colombia.

La concentración de derivados de purina (DP) en las muestras de orina (mmol/L) se obtuvo al agregar alantoína (mmol/L) y ácido úrico (mmol/L).

$$\text{DP (mmol/L)} = \text{Alantoína (mmol/L)} + \text{Ácido úrico (mmol/L)}$$

La cuantificación de la excreción diaria de derivados de purina (EDP) se obtuvo con el uso de la siguiente fórmula:

$$\text{EDP} = ((\text{DP} \times (\text{PV} \times \text{Kct}))/113.12)/\text{CT}$$

EDP: excreción diaria de derivados de purina (mmol/d), DP: concentración de derivados de purina en muestras de orina (mmol/L), PV: peso vivo (kg), CT: concentración de creatinina en muestras de orina (mmol/L) y Kct: coeficiente de excreción diaria de creatinina (mg/d) = $113 \times VP^{0.25}$, valor propuesto por Chen et al (20).

La estimación de la absorción diaria de purinas (AP) a partir de los ácidos nucleicos microbianos se calculó de acuerdo con Chen et al (20):

$$AP \text{ (mmol/d)} = ((EDP - (0.385 \times VP^{0.75}))/0.85$$

Donde AP: purina absorbida por día (mmol/d), EDP: excreción diaria de derivados de purina (mmol/d), $0.385 \times VP^{0.75}$: aporte endógeno de purina (mmol/kg de PV endógeno) y 0.85: recuperación de purinas absorbidas como derivados de purina (21).

El flujo intestinal de los componentes de nitrógeno microbiano (NM, N g/día) se calculó con base en las purinas microbiana absorbidas (PA, mmol/d) con la siguiente ecuación:

$$NM = (PA \times 70) / (0.83 \times 0.116 \times 1000)$$

NM: N microbiano (g/d), PA: purinas absorbidas (mmol/d), 70: Contenido de N en purinas microbianas (N mg/mmol), 0.83: factor de digestibilidad de purinas, 0.116: es un N en purinas: N total en la relación de microorganismos ruminales, expresados por 11.6/100), y 1000: factor de corrección de mg a gramos (20). Se calculó la PMicrob total producida (g/d):

$$PMicrob = NM \times 6.25$$

Donde NM: nitrógeno microbiano (g/d), y 6.25: coeficiente estándar del contenido N de proteínas (100/16).

Variables estimadas con el uso del programa AC. Las siguientes variables se estimaron a partir de las fórmulas del programa AC para obtener los balances de Met y Lis: Requerimiento de Met (MET Req, g/d), Requerimiento de Lis (LIS Req, g/d), Suministro de Met (g/d), Suministro de Lis (g/d), y balances predichos y observados de Met y Lis (g/d). La producción de PMicrob total (PMicrob, g/d) y el PMicrob absorbido en el ID (PMicrob digestible, g/d) se estimaron con el uso del NRC (1).

Análisis estadístico. Se llevó a cabo una prueba de t de muestras pareadas para determinar si las diferencias de las mediciones entre las observaciones pareadas de cada variable (observados vs predichos) fueron significativas. Se usó un nivel crítico del 5% para errores tipo I. Para complementar la información, se realizó

un análisis estadístico descriptivo para obtener las medias y las desviaciones estándar entre los valores observados y los predichos. La información se procesó con el uso del programa estadístico SAS.

La evaluación comparativa de la eficiencia de la predicción se llevó a cabo con el uso del ECMP, tal como lo describe Gomes et al (22), de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$ECMP = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (Xi - Yi)^2$$

Donde X = valores observados, Y = valores predichos. El total de observaciones (n) se usó como divisor para todos los cálculos de variaciones. Los coeficientes de concordancia (CCC), conocidos como los índices de reproducibilidad, que simultáneamente consideran la exactitud y la precisión, se calcularon de acuerdo con Pralle et al (23) y Pereira et al (24) para las variables CMSf, CMSt, PMicrob digestible, suministro y balance Lis y Met.

RESULTADOS

Los valores predichos no mostraron reproducibilidad ni exactitud en comparación con los valores observados (Tabla 3).

Tabla 3. Valores predichos y observados para las diferentes variables evaluadas.

Variable	Valores predichos	Valores observados	Valor P
CMSf (kg MS/día)	13.0 ± 0.0a	11.7 ± 1.74b	0.03
CMSt (kg MS/día)	20.6 ± 2.2a	19.3 ± 2.44b	0.02
PMicrob (g/día)	1772 ± 198b	2160 ± 392a	0.0002
PMicrob digestible(g/día)	851 ± 95.8b	1037 ± 188a	0.0002
Req MET (g/día)	32.0 ± 4.20	32.0 ± 4.20	-
Req LIS (g/día)	103 ± 10.5	103 ± 10.5	-
Suministro Met (g/día)	22.1 ± 1.76	28.6 ± 4.68	0.01
Suministro Lis (g/día)	77.9 ± 5.79	92.1 ± 13.2	0.001
Balance Met (g/día)	-9.70 ± 2.92	-3.40 ± 3.98	0.01
Balance Lis (g/día)	-25.1 ± 6.21	-10.8 ± 12.6	0.001

CMSf: Consumo de MS del forraje, CMSt: consumo de MS total = CMSf + CMSc, PMicrob: Producción de proteína microbiana, PMicrob digestible: Producción de proteína microbiana absorbida en el intestino delgado, Req MET: Requerimiento Met, Req Lis: Requerimiento Lis, Balance Met: Suministro Met metabolizable total- Req Met, Balance Lis: Suministro Lis metabolizable total- Req Lis.

La tabla 4 muestra las comparaciones entre los estimados obtenidos a partir de los valores predichos y observados.

Tabla 4. Correlaciones, error cuadrático medio de predicción y coeficientes de concordancia para las variables estudiadas.

Variable	r	ECMP	CCC
CMSf (kg MS/día)	-	4.36	-
CMSt (kg MS/día)	0.73	4.42	0.63
PMicrob (g/día)	0.42	203.237	0.18
PMicrob digestible (g/día)	0.42	46.826	0.18
Suministro Met (g/día)	0.72	21.62	0.34
Suministro Lys (g/día)	0.57	343	0.12
Balance Mit (g/día)	0.40	21.58	0.10
Balance Lis (g/día)	0.40	343	0.10

r: Coeficiente de correlación de Spearman, ECMP: error cuadrático medio de predicción, CCC: coeficiente de concordancia, CMSf: consumo de MS del forraje, CMSt: consumo de MS total = CMSf + CMSc, PMicrob: Producción de proteína microbiana, PMicrob digestible: Producción de proteína microbiana absorbida en el intestino delgado, Balance Met: Suministro de metionina metabolizable total - MET Req, Balance Lis: Suministro de lisina metabolizable total - Req LIS.

DISCUSIÓN

Las variables más importantes para los cálculos del balance de Met y Lis son CMSf y PMicrob. Los valores de CMSf observados por Correa et al (12) son similares a nuestros datos sobre el pasto kikuyo de 11.0 ± 2.98 y 13.6 ± 3.74 , estimados usando la fibra detergente ácido indigestible (FDAi) *in vitro* e *in situ*, respectivamente. Por otro lado, los datos obtenidos para la producción de PMicrob medidos en el mismo sistema de alimentación son diferentes. Estos autores descubrieron que el flujo de PMicrob hacia el duodeno era de 482.9 ± 509.7 g/vaca/d, con un alto coeficiente de variación (105.5%). Sin embargo, en nuestro estudio, observamos que la producción de PMicrob era de 2160.4 ± 392.0 , con un coeficiente de variación del 18.1%, un valor mucho menor.

El análisis de la prueba de t pareada reveló que las diferencias entre las medias de las observaciones pareadas son significativamente diferentes para CMSf, CMSt, PMicrob, PMicrob digestible y suministro Met y Lis ($p < 0.05$). En consecuencia, como los valores de las variables CMSf predichos y observados son diferentes, las estimaciones de Met y Lis también difieren. Este resultado corrobora el hecho de que los valores predichos no son comparables con los valores observados cuando las evaluaciones se realizan en sistemas de pastoreo. Con respecto al balance AA, se verificó que la deficiencia de Met estimada por el programa AC fue 64.9% mayor que la deficiencia observada (-9.70 vs -3.40 g/d). Para Lis, la deficiencia estimada fue 57.0% mayor que la deficiencia observada (-25.1 vs -10.8 g/d). Estos hallazgos demuestran que los aportes de AA fueron infravaloraciones de la dieta y la PMicrob calculadas inicialmente.

Como puede verse (Tabla 4), los coeficientes de correlación de Spearman son altos para el CMS total y el suministro de Met y Lis (0.73, 0.72, 0.57 y 0.67, respectivamente), pero para el resto de las estimaciones, los coeficientes fueron más bajos. Para todas las variables, los valores de CCC fueron bajos (entre 0.02 y 0.34) y sus ECMP altos, lo que demuestra que los resultados predichos son diferentes de los valores observados, excepto por el CMSt, que tenía una leve fuerza de concordancia y un ECMP bajo de 4.42 (Tabla 3).

Los resultados confirman que los valores predichos no exhibieron ni precisión ni exactitud en comparación con los valores observados. Bajo las condiciones del sistema de pastoreo, los valores predichos y observados del consumo de materia seca del forraje y el consumo total de materia seca fueron diferentes; por esta razón, los valores observados de proteína microbiana y endógena difieren de los valores predichos para esta variable.

Las diferencias predichas y observadas para CMSf y CMSt son importantes ya que las desviaciones entre los valores de consumo predichos y observados afectarán los aportes de AA en el ID teniendo en cuenta que los cálculos para determinar los balances de AA se basan en un sistema aditivo. Todos los aportes realizados por el PND, la PMicrob y la PE incluyen la variable de consumo de materia seca en sus ecuaciones. Si esta variable varía de forma considerable en comparación con el valor promedio determinado inicialmente, habrá grandes diferencias entre los valores predichos y observados en las determinaciones finales del balance de Met y Lis, ya que estos balances reflejan las diferencias detectadas en el resto de las determinaciones.

Con respecto al CMSf, las diferencias identificadas entre los valores predichos y los valores de campo se deben a que, en el primer caso, no se tienen en cuenta las características bromatológicas de la dieta, el medio ambiente, la demanda nutricional y energética y la selectividad de cada animal al calcular el CMSf. Una conclusión importante es que para balancear las dietas para AA limitantes, el CMSf debe determinarse con anterioridad para cada individuo, ya que los balances de AA también se calculan individualmente, y esta variable se incluye en las determinaciones del resto de las variables.

Patton (25,26) sugirió que, para poder alcanzar un balance de AA apropiado, se debe conocer el CMS real del grupo de animales. De no ser posible, el cálculo del balance de AA no puede realizarse. Al mismo tiempo, el autor establece que los modelos usados para determinar el CMS se basan en varios estudios publicados, de forma que los

modelos constituyen más que una suposición. Las diferencias entre los modelos pueden ser de hasta 1.5 kg en el consumo planeado para un animal en particular; esta diferencia en el consumo cambia el flujo de AA hacia el ID. A pesar de que en nuestro estudio el CMSf fue una aproximación, es más realista en el tipo de sistema gestionado en vacas en pastoreo en Colombia que en las ecuaciones del NRC (1).

Las diferencias detectadas en los valores de PMicrob predichos y observados pueden deberse al hecho de que la fórmula de estimación para el valor predicho se basa en el TDN, y el uso de esta variable incluye la energía suministrada por la grasa, que no es un sustrato energético usado por microorganismos ruminales para su crecimiento (27). Además, la fórmula asume una eficiencia constante, y puede subestimar la producción de PMicrob en dietas con altos niveles de alimentos concentrados, porque la bacteria no crece con la misma eficiencia cuando fermenta fibra, como lo hace con carbohidratos solubles.

La eficiencia puede variar entre 13 y 33% (28); por lo tanto, no se puede asumir un valor constante. Una estimación más adecuada para la síntesis de PMicrob incluiría la materia orgánica fermentable, ya que las dietas que son más fermentables proporcionan más energía, favorecen el crecimiento microbiano y pueden reflejarse en una mejor estimación de esta variable. Por lo tanto, se puede afirmar que los valores de PMicrob

metabolizable (digerida) que se estiman con la fórmula del NRC (1) están subestimados en los sistemas de pastoreo.

En conclusión, bajo condiciones de pastoreo, en este estudio, el programa AminoCow subestima el aporte de Met y Lis en el intestino delgado. En sistemas de producción basados en el pastoreo, la determinación del aporte de Lis y Met, así como la cantidad de estos AA a suplementar, es necesaria para recopilar datos individuales para el consumo de materia seca del forraje, la producción de proteína microbiana, y el consumo total de pasto.

Bajo las condiciones del sistema de pastoreo, los valores predichos y observados de consumo de materia seca del forraje y consumo de materia seca total fueron diferentes; por ello, los valores de proteína microbiana y endógena difieren de los valores predichos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses con respecto a la publicación de este escrito.

Agradecimientos

Colciencias por el Dr. Sci. Anim. Beca otorgada al primer autor de este documento. La Universidad de Antioquia y el grupo de investigación Biogénesis son reconocidos con gratitud.

REFERENCIAS

1. National Research Council. Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition. Washington, DC: The National Academies Press; 2001. <https://doi.org/10.17226/9825>
2. Van Amburgh ME, Collao-Saenz EA, Higgs RJ, Ross DA, Recktenwald EB, Raffrenato E, Chase LE, Overton TR, Mills JK, Foskolos A. The Cornell Net Carbohydrate and Protein System: Updates to the model and evaluation of version 6.5. *J Dairy Sci.* 2015; 98(2):6361-6380. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9378>
3. Třináctý J, Křížová L, Richter M, Černý V, Říha J. Effect of rumen-protected methionine, lysine or both on milk production and plasma amino acids of high-yielding dairy cows. *Czech J Anim Sci.* 2009; 54(6):239-248. <https://doi.org/10.17221/1730-CJAS>
4. Robinson P. Impacts of manipulating ration metabolizable lysine and methionine levels on the performance of lactating dairy cows: A systematic review of the literature. *Livest Sci.* 2010; 127(2-3):115-126. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.10.003>
5. Patton R. Effect of rumen-protected methionine on feed intake, milk production, true milk protein concentration, and true milk protein yield, and the factors that influence these effects: A meta-analysis. *J Dairy Sci.* 2010; 93(5):2105-2118. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2693>
6. Robinson P, Swanepoel N, Shinzato I, Juchem S. Productive responses of lactating dairy cattle to supplementing high levels of ruminally protected lysine using a rumen protection technology. *Anim Feed Sci Technol.* 2011; 168(1-2):30-41. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.03.019>

7. AminoCow. The Mepron Dairy Ration Evaluator. Hanau, Germany: Degussa Corp; 2010. <http://www.makemilknotmanure.com/aminocow.php>
8. Batista C, Detmann E, Valadares S, Queiroz A, Pereira T, Rodrigues R, Augusto de Souza M, Carli V. Evaluation of models for prediction of the energy value of diets for growing cattle from the chemical composition of feeds. *R Bras Zootec.* 2012. 41(9):2110-2123. <https://www.rbz.org.br/article/evaluation-of-models-for-prediction-of-the-energy-value-of-diets-for-growing-cattle-from-the-chemical-composition-of-feeds/>
9. Duque-Quintero M, Rosero-Noguera R, Olivera-Angel M. Digestion of dry matter, crude protein and amino acids of the diet dairy cows. *Agron Mesoam.* 2017; 28(2):341-356. <https://doi.org/10.15517/ma.v28i2.25643>
10. Moreira Filho MA, Alves AA, Garcez BS, Moreira AL, Azevêdo DMMR, Parente HN. Digestibility markers of sheep diets containing hydrolyzed sugarcane-top hay. *Rev Bras Saúde Prod Anim.* 2017; 18(1):38-49. <http://dx.doi.org/10.1590/s1519-99402017000100005>
11. Santos SA, Valadares Filho SdC, Detmann E, Valadares RFD, Ruas JRM, Prados LF, et al. Intake, digestibility and nitrogen use efficiency in crossbred F1 Holstein× Zebu grazing cows. *R Bras Zootec.* 2012; 41(4):1025-1034. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982012000400027>
12. Correa H, Pabón M, Carulla J. Estimación del consumo de materia seca en vacas Holstein bajo pastoreo en el trópico alto de Antioquia. *Livestock Res Rural Dev.* 2009; 21(4): <http://www.lrrd.org/lrrd21/4/corr21059.htm>
13. Fukushimaa R, Kerleya M, Ramos M, Porter J, Kallenbach R. Comparison of acetyl bromide lignin with acid detergent lignin and Klason lignin and correlation with in vitro forage degradability. *Anim Feed Sci Technol.* 2015; 201:25–37. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.12.007>
14. Souza N, Detmann E, Pina D, Valadares Filho S, Sampaio C, Queiroz A, et al. Evaluation of chromium concentration in cattle feces using different acid digestion and spectrophotometric quantification techniques. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2013; 65(5):1472-1482. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352013000500028>
15. Fagundes M, Yang s, Eun J, Hall J, Moon J, Park JS. Influence of supplementing a methionine derivative, N-acetyl-L-methionine, in dairy diets on production and ruminal fermentation by lactating cows during early to mid lactation. *J Dairy Sci.* 2018; 101 (8):1–13. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14130>
16. Faleiro J, Moreira E, Braga Reis R, Machado I, Mattana H, Castro dos Reis T, Reed J. Produção de proteína microbiana e derivados de purinas em vacas. *PUBVET.* 2016; 10(1):91-99. DOI: <https://doi.org/10.22256/pubvet.v10n1.91-99>
17. Castro-Montoya J, Henke A, Molkentinc J, Knappe K, Susenbeth A, Dickhoefer U. Relationship between milk odd and branched-chain fatty acids and urinary purine derivatives in dairy cows supplemented with quebracho tannins—A study to test milk fatty acids as predictors of rumen microbial protein synthesis. *Anim Feed Sci Tech.* 2016; 214:22-33. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.01.016>
18. Escobar Puerta L, Bolívar Vergara DM, Espinoza García D. Uso de la Excreción de Creatinina como Método Alternativo a la Colecta Total de Orina en Vacas Holstein. *Rev Fac Nac Agron Medellín.* 2010; 63(2):5567-5576. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/25045>
19. Vlassa M, Filip M, Pascalau V, Coman V, Dragomir C. Determination of purine derivatives in bovine urine using rapid chromatographic techniques. *Arch Zootec.* 2009; 12(4):59-70. https://www.ibna.ro/arhiva/AZ%2012-4/AZ%2012-4_05%20Vlassa.pdf
20. Kozloski GV, Stefanello CM, Oliveira L, Ribeiro H, Klopfenstein T. Technical note: Evaluation of urinary purine derivatives in comparison with duodenal purines for estimating rumen microbial protein supply in sheep. *J Anim Sci.* 2017; 95(2):884-891. <https://doi.org/10.2527/jas.2016.0840>
21. Figueiras JF, Detmann E, Paulino MF, Valente TNP, Valadares Filho SdC, Lazzarini I. Intake and digestibility in cattle under grazing supplemented with nitrogenous compounds during dry season. *R Bras Zootec.* 2010; 39(6):1303-1312. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010000600020>

22. Gomes JA, Valadares Filho SdC, Detmann E, Pina DdS, Paulino MF, Valadares RFD, et al. In situ and in vitro degradation kinetics and prediction of the digestible neutral detergent fiber of agricultural and agro-industrial byproducts. *R Bras Zootec.* 2012; 41(8):1890-1898. <https://www.rbz.org.br/article/in-situ-and-in-vitro-degradation-kinetics-and-prediction-of-the-digestible-neutral-detergent-fiber-of-agricultural-and-agro-industrial-byproducts/>
23. Pralle RS, Weigel K, White H. Predicting blood β -hydroxybutyrate using milk Fourier transform infrared spectrum, milk composition, and producer-reported variables with multiple linear regression, partial least squares regression, and artificial neural network. *J Dairy Sci.* 2018; 101(5):4378-4387. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14076>
24. Pereira G, Heins B, Endres M. Technical note: Validation of an ear-tag accelerometer sensor to determine rumination, eating, and activity behaviors of grazing dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2018; 101(3):1-4. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12534>
25. Patton RA. The strategic use of ruminally protected amino acids in dairy nutrition. [En línea]. Proceedings of Florida Ruminant Nutrition Symposium, 2009. Citeseer. Available in: <http://dairy.ifas.ufl.edu/rns/2009/Patton.pdf>
26. Patton RA. Effect of rumen-protected methionine on feed intake, milk production, true milk protein concentration, and true milk protein yield, and the factors that influence these effects: A meta-analysis. *J Dairy Sci.* 2010; 93:2105-2118. [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(10\)00201-8/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(10)00201-8/fulltext)
27. Galyean M, Tedeschi L. Predicting microbial protein synthesis in beef cattle: Relationship to intakes of total digestible nutrients and crude protein. *J Anim Sci.* 2014; 92(11):5099-5111. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8098>
28. Ramaiyulis, Rusmana WSN, Mardiati Z, Lili W. Optimization of Rumen Microbial Protein Synthesis by Addition of Gambier Leaf Residue to Cattle Feed Supplement. *Pak J Nutr.* 2019; 18(1):12-19. <http://dx.doi.org/10.3923/pjn.2019.12.19>