El valor nutritivo de los forrajes ensilados. II. Digestión y eficiencia de utilización[1]

Claudio Wernli Küpfer[2]

La expresión más adecuada del valor nutritivo de los alimentos ofrecidos al ganado lo constituye la respuesta animal en términos productivos, lo que a su vez refleja directamente la cantidad de alimento consumido y la proporción de éste que es digerido y metabolizado en el organismo animal. En un trabajo anterior (Wernli, 1975) se analizan los factores que afectan el consumo voluntario de los forrajes ensilados y su importancia en el contexto del valor nutritivo de los ensilajes. El presente trabajo revisa los conocimientos actuales sobre la digestión y eficiencia de utilización de los nutrientes digeridos para fines de producción animal en rumiantes.

1. DIGESTIBILIDAD

La digestibilidad de los ensilajes depende principalmente de la digestibilidad del forraje original en pie. Estudios sobre 37 ensilajes

[1]El presente trabajo fue realizado en el Grassland Research Institute, Hurley, Inglaterra, gracias a una beca de estudios de postgrado conferida por The British Council. A estas dos instituciones, el autor desea expresar su sincero agradecimiento.

Recepción originales: 21 de octubre de 1974.

[2]Ing. Agr., Ph. D., Area Producción Animal, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Casilla 5427, Santiago, Chile. Profesor Cursos Pregrado y Postgraduados en Producción Animal, Depto. de Producción Animal, Sede Santiago Sur, Universidad de Chile.

experimentales de gramíneas y praderas naturales revelaron que la digestibilidad de los ensilajes se relacionaba directamente a la del forraje original (Demarquilly, 1973). La ecuación de regresión para la digestibilidad de materia orgánica (M.O.) de los ensilajes (y) y la digestibilidad del forraje fresco al momento de la cosecha (x) fue:

$$y = 0{,}990\ x - 4{,}45\ (\pm\ 3{,}25);$$
$$r = 0{,}819\ (P < 0{,}001).$$

Los factores que afectan la digestibilidad de los forrajes en general (especie forrajera, estado vegetativo, relación contenidos celulares: paredes celulares totales y la composición físico-química de las paredes celulares) pueden influir, por lo tanto, en forma importante sobre la digestibilidad del producto final conservado en forma de ensilaje. Con el avance en el estado de madurez, Hammes *et al.* (1966) en 3 experimentos con praderas de alfalfa-pasto ovillo, y Mc Carrick (1965) con gramíneas, observaron una depresión de 6 y 7 unidades % en la digestibilidad de los ensilajes al postergar la cosecha en 20 y 15 días pasando del estado de preespigadura a espiga completa, respectivamente.

En maíz y sorgo, la digestibilidad de los ensilajes cosechados en estados vegetativos diferentes sigue un curso similar a la variación en digestibilidad de la planta en pie; es así como se observan valores constantes en los primeros estados de desarrollo del grano, seguido por un aumento en la digestibilidad de la M.O. que coincide con el avance en el desarrollo del grano, para luego descender a un nivel relativamente constante (Wernli *et al.*, 1967; Johnson y Mc Clure, 1968; Melotti, 1969b; Jones *et al.*, 1971). Cabe considerar aquí la posible interacción entre el tipo de animal y la digestibilidad: Colovos *et al.* (1970) observaron que la digestibilidad del ensilaje de maíz aumentó al avanzar la madurez desde el estado de grano pastoso a semiduro, para luego bajar en los estados de dentición primaria y grano duro cuando se estudió con bovinos; con ovinos, en cambio, la digestibilidad de la materia seca (M.S.) y energía de los ensilajes cosechados en los últimos dos estados vegetativos fue significativamente superior a la de los primeros estados. En una comparación entre maíz y sorgo, Johnson y Mc Clure (1968) y Johnson, Faria y Mc Clure (1971) concluyen que la digestibilidad de diversas variedades de sorgo ensilado es inferior a la del maíz. Ello se atribuye a que, si bien en ambas especies aumenta el contenido de carbohidratos altamente utilizables con el desarrollo del grano, la digestibilidad de las paredes celulares, particularmente de la celulosa, desciende más bruscamente con la madurez en sorgo que en el maíz. Cummins y Mc Cullough (1969) también encontraron una digestibilidad superior en 7 unidades % para ensilaje de maíz en comparación a sorgo, cosechados ambos en un estado vegetativo similar.

A. Digestibilidad de los ensilajes en relación al forraje original o heno

Diversos investigadores han encontrado que la digestibilidad aparente de los ensilajes es muy similar a la digestibilidad del forraje original, heno o forraje artificialmente deshidratado de la misma pradera (Harris y Raymond, 1963; Brown y Valentine, 1972; Demarquilly y Andrieu, 1972; Wernli y Wilkins, 1975). Otros trabajos con alfalfa (Thomas *et al.*, 1969) y maíz (Melotti, 1969a) indican digestibilidades más altas para el ensilaje en relación al heno del mismo cultivo. La mayoría de los trabajos publicados, sin embargo, señalan una digestibilidad más baja para los ensilajes que para las otras formas de forraje, siendo la magnitud de esta diferencia bastante variable (Cuadro 1).

El proceso de fermentación de los forrajes ensilados conduce a una transformación de gran parte de las fracciones altamente digestibles de los contenidos celulares (carbohidratos simples, proteínas, otros) en derivados tales como ácido láctico, ácidos grasos volátiles (AGV), amoníaco y compuestos azoados, con pérdida parcial de la energía en forma de calor. Los componentes estructurales o "fracción fibrosa" del forraje, de menor digestibilidad que los contenidos celulares, permanecen casi inalterados durante la fermentación del ensilado. Por ello, la proporción de componentes estructurales es generalmente algo mayor en los ensilajes con respecto al mismo forraje en pie, por lo que la digestibilidad de los ensilajes resulta frecuentemente inferior a la del forraje original. Cabe considerar que la intensidad y características del proceso de fermentación del forraje es variable, dependiendo, entre otros, del contenido de humedad del material ensilado, tipo de silo y grado de compactación. Fermenta-

Cuadro 1 — Digestibilidad *in vivo* de ensilajes en comparación al forraje original, deshidratado o heno obtenidos de una misma pradera.

Especie Forrajera	*Expto.*	*Digestibilidad aparente de la M.S. (%)* *Ensilaje*	*Fresco*	*Heno*	*Digestibilidad ensilaje en relación a forraje testigo (%) y nivel de significancia estadística*	*Referencia*
Gramíneas	I	67,3	69,3	—	—2,9	Demarquilly, 1973[1]
Gramíneas	II	61,1	65,2	—	—6,3	„
Gramíneas	I	S.R.	S.R.	—	—7,0	Demarquilly & Jarrige, 1970[1]
Ballica S24	I	70,6	78,3	—	—9,8	Harris & Raymond, 1963[1]
Pasto ovillo S37	I	66,1	73,3	—	—9,8	„
Ballica H-1	II	71,4	72,1	—	—1,0	„
Festuca S215	II	67,7	69,0	—	—1,9	„
Pasto ovillo	III	79,3	74,4	—	+6,6	„
Ballica H-1	III	78,3	73,8	—	+6,1	„
Festuca 215	III	73,7	74,2	—	—0,7	„
Timothy S48	III	69,4	75,0	—	—7,5	„
Ballica H-1	IV	56,2	—	55,8	+0,7	„
Timothy S48	IV	66,4	—	67,9	—2,2	„
Gramíneas y Pradera Natural		64,2	68,7	—	—6,6	Demarquilly, 1973[1]
Ballica S-24		73,5	—	72,8[2]	+1,0 (N.S.)	Wernli & Wilkins, 1975
Maíz		52,9	—	43,8	+20,8 (P< 0,05)	Melotti, 1969a
Alfalfa		62,2	64,2	—	—3,1 (N.S.)	Brown & Valentine, 1972
Alfalfa	I	55,1	—	60,1	—8,3 (P< 0,01)	Waldo *et al.*, 1966
Alfalfa	II	53,7	—	56,8	—5,5 (P< 0,01)	„
Alfalfa	I	58,6	—	63,0	—7,0 (P< 0,05)	Thomas *et al.*, 1969
Alfalfa	II	60,7	—	57,7	+5,2 (P< 0,05)	„
Alfalfa	III	62,2	—	53,8	+15,6 (N.S.)	„
Alfalfa	IV	62,5	—	57,9	+7,9 (P< 0,05)	„
Alfalfa	I	59,5	—	64,5	—7,8 (P< 0,05)	Sutton & Vetter, 1971
Alfalfa	II	60,1	—	63,8	—5,8 (P< 0,05)	„
Alfalfa	I	S.R.	S.R.	—	—14,0	Zelter, 1970[1]
Alfalfa	II	S.R.	S.R.	—	—9,2	„
Alfalfa/Gramíneas		58,0	—	66,2	—12,4 (P< 0,05)	Waldo *et al.*, 1965
Maravilla (Girasol)		60,2	62,4	—	—3,5	Demarquilly & Andrieu, 1972[1]

[1]Sin análisis estadístico.
[2]Forraje deshidratado artificialmente y prensado.
S. R.: sin referencia. N. S.: estadísticamente no significativo.

ciones caracterizadas por un sobrecalentamiento o con pérdidas de lixiviación muy elevadas pueden reducir la digestibilidad de la M.O. y proteína en mayor grado (Watson y Nash, 1960).

La evacuación de aire del forraje ensilado en silos herméticos al vacío (Wilson, Terry y Osbourn, 1969; Wernli y Rivadeneira, 1969) y la reducción máxima del tamaño de las partículas del material antes de ensilar (Dulphy y Demarquilly, 1973) con el objeto de mejorar la fermentación del forraje, no han influido sobre la digestibilidad de una amplia gama de ensilajes confeccionados en condiciones técnicamente adecuadas.

La mayoría de los trabajos publicados a la fecha (Cuadro 1) han medido la digestibilidad de la M.S. o M.O. de los ensilajes. Sin embargo, es importante considerar la digestibilidad y utilización de los ensilajes en tér-

minos de energía, tomando en cuenta la fracción volátil, que alcanza normalmente entre 10 y 20% de la M.S. total (Demarquilly, 1973; Wernli y Wilkins, 1975). El contenido de energía o valor calórico de esta fracción volátil es más alta que la del resto de la M.S. debido al elevado valor energético de los AGV, aunque ello es variable debido a la diferencia en valor calórico de los distintos AGV (de 209,4 Kcal/mol gramo para ácido acético a 524,3 para ácido butírico) que se encuentran presentes en proporciones variables de acuerdo a la naturaleza del proceso de fermentación del forraje. Además, esta fracción volátil es absorbida y metabolizada casi en su totalidad. Por ello, los resultados podrían diferir al comparar ensilaje y heno u otros forrajes en cuanto a digestibilidad de su M.S. o de su energía bruta. Coeficientes de digestibilidad de la M.S. significativamente menores para ensilaje en relación a forraje fresco o heno, pueden corresponder a valores similares o incluso superiores en términos de digestibilidad de la energía (Harris y Raymond, 1963; Thomas *et al.*, 1969).

B. Efecto del marchitamiento previo sobre la digestibilidad de los ensilajes

El marchitamiento previo a la ensiladura de siete cultivos forrajeros estudiados por Harris *et al.* (1966) disminuyó levemente la digestibilidad de la materia seca. Resultados similares fueron encontrados por Mc Carrick (1965), Schulz y Oslage (1967) y Jackson y Forbes (1970). En cambio, los trabajos de Zelter (1970) y Alder *et al.* (1969) en dos de tres ensayos con bovinos de carne y leche indican una digestibilidad ligeramente más alta para ensilaje de ballica marchito en relación al ensilaje no marchitado; Castle y Watson (1970b) observaron que al aumentar el contenido de M.S. del ensilaje de 19,6 a 35,2% después de 28 horas de marchitez, la digestibilidad del ensilaje subió de 58,9 a 67,8%. Otras investigaciones con ovinos, bovinos de carne y de leche no han encontrado ningún efecto sobre la digestibilidad de la M.O. al aplicar varios niveles de marchitamiento en alfalfa (Hawkins *et al.*, 1970), mezclas de alfalfa y gramíneas (Logan y Haydon, 1964), mezclas de gramíneas (Forbes y Jackson, 1971; Mogilevskii, 1972), cebada forrajera (Wilkins, Osbourn y Tayler, 1970) y pasto-sudán (Fisher *et al.*, 1971).

Condiciones climáticas desfavorables durante el proceso de marchitamiento pueden afectar la calidad del ensilaje disminuyendo su digestibilidad (Mc Carrick, 1965). Watson y Nash (1960) han sugerido que los efectos del marchitamiento sobre la digestibilidad pueden ser influenciados por las características del proceso de fermentación del forraje. No sorprende, por lo tanto, que las comparaciones entre la digestibilidad de ensilajes confeccionados con y sin marchitamiento hayan entregado resultados variables, pero la magnitud de estas diferencias son generalmente bajas.

C. Efecto de aditivos sobre la digestibilidad de los ensilajes

La agregación de aditivos al forraje en el momento de ensilar puede afectar significativamente la digestibilidad de los ensilajes. La adición de melazas a un forraje de festuca-timothy en niveles de 9 lt/tonelada de materia verde (M.V.) aumentó la digestibilidad de la M.S. de 78 a 84% (Murdoch, 1965).

El uso de ácido fórmico aplicado en niveles crecientes como aditivo de alfalfa y pasto ovillo entregó los resultados señalados en el Cuadro 2. La digestibilidad fue mayor para los niveles intermedios de aditivo, pero la regresión de digestibilidad de la M.O. sobre niveles de ácido fórmico no fue significativa ($P > 0,05$). Otras investigaciones revelan que la aplicación de ácido fórmico al 0,23% de la M.V. en gramíneas aumentó la digestibilidad de la M.O. en 2,8 y 9,9 unidades % en los trabajos de Castle y Watson (1970a y 1970b, respectivamente); en alfalfa, Waldo *et al.* (1971) y Valentine y Brown (1973) observa-

Cuadro 2 — Niveles de adición de ácido fórmico y digestibilidad de alfalfa y pasto ovillo (Wilson y Wilkins, 1973).

Nivel de ácido fórmico (Kg/100Kg M.V.)	*Digestibilidad in vivo de la M.O. (%)*	
	Alfalfa	*Pasto ovillo*
0	67,2	75,6
0,11	68,4	77,0
0,23	72,9	78,8
0,45	68,0	77,2
0,68	67,4	77,7
0,91	70,2	77,4
E. S. $\bar{x}$ tratamiento	±0,8	±0,8

ron que niveles de 0,5% incrementaron la digestibilidad de la M.S. entre 2 y 8 unidades% ($P < 0,01$) respectivamente. También la mezcla de ácido fórmico y formalina ha aumentado la digestibilidad de la alfalfa en 9,4 unidades% (Valentine y Brown, *loc. cit.*). En pasto-sudán, niveles de 0,5% de ácido fórmico no han afectado la digestibilidad del ensilaje (Fisher *et al.*, 1971; Waldo *et al.*, 1971).

Para ensilajes marchitos, el uso de ácido fórmico parece no ejercer ninguna influencia sobre la digestibilidad de la M.O. y energía (Castle y Watson, 1973; Candlish *et al.*, 1973).

El empleo de formalina (formaldehído 45%) no influyó sobre la digestibilidad del ensilaje de alfalfa o de trébol rosado/gramíneas (Barry *et al.*, 1973; Valentine y Brown, 1973). Niveles muy elevados (1,9 y 3,9% formalina base M.V.) han deprimido la digestibilidad de la M.S. en 13 y 23 unidades %, respectivamente (Brown y Valentine, 1972).

La digestibilidad de la proteína resulta generalmente poco afectada por la adición de ácido fórmico o la mezcla de ácido fórmico y formalina en los niveles arriba indicados (Fisher *et al.*, 1971; Valentine y Brown, 1973), pero el uso de formalina se ha caracterizado por una reducción significativa de la digestibilidad de la proteína en alfalfa (-8 unidades %; Valentine y Brown, 1973) y en trébol/gramíneas (-7,2 unidades %; Barry *et al.*, 1973).

En conclusión, la digestibilidad de los forrajes ensilados depende fundamentalmente de la digestibilidad del forraje originalmente cosechado. Factores inherentes al proceso de ensiladura tales como el contenido de M.S. del forraje, tipo de silo, sistema de ensiladura, temperatura del proceso, pueden afectar la digestibilidad de la M.S. en forma variable, aunque a menudo se observa que la digestibilidad de los ensilajes es inferior en comparación al forraje fresco o heno del mismo cultivo. El marchitamiento del forraje antes de ensilar indica resultados contradictorios, influyendo en forma importante las condiciones generales en que se lleva a cabo la etapa de marchitamiento del forraje. Estudios recientes sobre el uso de aditivos, por otra parte, entregan resultados variables dependiendo del tipo de aditivo, nivel de aplicación y clase de forraje; el ácido fórmico y la melaza aparecen muy adecuados, especialmente como aditivos para leguminosas. Se hace necesario ampliar las investigaciones con el objeto de concretar la información existente al respecto.

2. UTILIZACION DE LOS NUTRIENTES DIGESTIBLES

A. ENERGIA

A. 1.) Factores inherentes al forraje que influyen sobre la utilización de la energía.

a) *Eficiencia de utilización de la energía para ensilaje y heno.*

Experimentos en calorimetría llevados a cabo por van Es y Nijkamp (1967) indican que la eficiencia de utilización de la energía metabolizable (E.M.) para balance energético positivo en vacas secas no gestantes, no difirió significativamente entre ensilaje y heno (54 y 51%, respectivamente).

El empleo de cámaras calorimétricas y la técnica de beneficio comparativo constituyen los únicos métodos que permiten medir la eficiencia de utilización de la energía para mantención y producción en forma precisa. Su uso en investigación es restringido dado el alto costo involucrado, y existe muy escasa información acerca de la eficiencia de utilización de la energía con dietas de ensilaje en comparación a otros forrajes.

Estimaciones sobre la eficiencia de utilización de los nutrientes digeridos obtenidos en ensayos de producción animal con ovinos y bovinos han indicado resultados variables. La eficiencia de utilización de la materia orgánica digestible (MOD) del ensilaje fue más alta (menores requerimientos de MOD por Kg de aumento de peso) que para heno en los experimentos de Thomas *et al.* (1969) con ovinos y bovinos, y de Waldo *et al.* (1965) con bovinos en crecimiento. Los resultados de Kerr *et al.* (1963) y Forbes e Irwin (1968) por otra parte, indican que la MOD del ensilaje y heno fueron utilizadas con eficiencias similares al ser suministrados a novillos de 300 y 400 Kg, respectivamente. El valor calórico del ensilaje es mayor que para heno (ver 1.A) y este factor no ha sido considerado en los experimentos mencionados anteriormente. No parece, sin embargo, que este factor por sí solo pueda explicar la variabilidad observada entre los distintos experimentos que han comparado la eficiencia

de utilización de la energía de ensilajes y henos.

La interpretación de los ensayos de producción lechera con el objeto de estimar la eficiencia de conversión de la energía digerida en leche es difícil, debido al gasto variable de energía en los cambios de peso vivo y mantención. Además, la mayoría de los trabajos estudian el uso de forrajes conservados en combinación con alimentos concentrados para producción láctea. En un estudio con cebada forrajera, Fisher *et al.* (1972) encontraron que la eficiencia de utilización de la energía digestible (E.D.) para producción de leche fue superior para heno (49,1%) que para ensilaje del mismo cultivo (43,9%), ambos cosechados en similar estado vegetativo y suplementados con concentrados.

b) *Influencia del estado vegetativo, marchitamiento del forraje y uso de aditivos sobre la utilización de la energía.*

El estado vegetativo de una pradera al ensilar también parece afectar la utilización de su energía digerida, al postergar el momento de cosecha desde el estado de preemergencia de la panoja a panoja completa en una mezcla de pasto ovillo y alfalfa, Hammes *et al.* (1966) encontraron que la eficiencia de conversión del TND para ganancias de peso en novillos se redujo en 33 por ciento. En maíz de ensilaje cosechado en 4 estados vegetativos distintos, estudios calorimétricos indican que la eficiencia de utilización de la energía neta no difirió significativamente entre los 4 estados vegetativos de cosecha (Colovos *et al.*, 1970).

Investigaciones acerca del marchitamiento de gramíneas antes de ensilar (Forbes y Jackson, 1971) señalan que las eficiencias de conversión de la E.M. para novillos en crecimiento y engorda con ensilajes de 18,7-35,2 y 51,0% de M.S. ofrecidos a discreción fueron de 25,0 - 29,6 y 21,1 Mcal/Kg aumento de peso, respectivamente, no siendo estas diferencias estadísticamente significativas. Alder *et al.* (1969) encontraron que la MOD del ensilaje de gramíneas marchito tendió a ser utilizado más eficientemente por novillos de año en comparación al ensilaje directo. La digestibilidad del ensilaje marchito fue ligeramente más alta que para el directo (75,6 vs 72,8%); este factor, junto con el mayor consumo de M.S. ocurrido con el ensilaje marchito pueden explicar en parte las diferencias observadas en eficiencia de utilización de la MOD para fines productivos.

El uso de ácido fórmico como aditivo de ensilajes de alfalfa y pasto sudán consumidos en cantidades similares para vaquillas en crecimiento (Waldo *et al.*, 1971), reveló que la eficiencia de conversión de la E.D. para crecimiento por encima del gasto en mantención fue significativamente más alto en 2 de 3 ensayos, en comparación a los ensilajes sin aditivo. En vacas lecheras, la eficiencia de utilización de la E.D. para producción de leche y cambios de peso sobre mantención fue significativamente más alta (75,1%) para ensilaje de pasto sudán preservado con 0,5% de ácido fórmico en relación al ensilaje sin aditivo (54,2%), siendo los consumos de E.D. similares para ambos tratamientos (Fisher *et al.*, 1971). Estos resultados, si bien promisorios, requieren de mayor confirmación experimental.

A. 2.) Factores inherentes al animal que afectan la eficiencia de utilización de la energía digerida.

a) *Sector de absorción de la energía dentro del tubo digestivo.*

El sector del tubo digestivo en que los distintos componentes nutricionales del forraje son absorbidos, puede influenciar la eficiencia de utilización de los nutrientes digeridos. Estudios preliminares llevados a cabo por Beever *et al.* (1971) con ovinos fistulados al rumen e intestinos, señalan que con dietas de ensilaje directo, una mayor proporción de la energía digerida fue absorbida en el tracto posterior del tubo digestivo (intestino delgado), en comparación a dietas de heno o ensilaje marchito ofrecidos en iguales cantidades. Obviamente se requiere de un mayor volumen de información antes que diferencias en la localidad de absorción permitan explicar, en parte, las diferencias en eficiencia de utilización de la energía entre tipos de forraje.

b) *Naturaleza de la fermentación ruminal.*

Investigaciones que han comparado distintas formas de alfalfa (Thomas *et al.*, 1961; Puech *et al.*, 1968; Candeau, 1969; Zelter, 1970) y gramíneas (Thomson, 1968; Anderson y Jackson, 1971), indican que no hubo diferencias significativas en la concentración de AGV individuales y totales en el licor de

rumen de ovinos y bovinos alimentados con heno, forraje fresco o ensilado. Las proporciones molares de los distintos AGV, en cambio, siguen tendencias variables. Trabajos en alfalfa (Zelter, 1970) indican proporciones mayores de ácido acético y menores de ácido propiónico con dietas de ensilaje en relación a heno. Por otra parte, Puech *et al.* (1968) y Candeau (1969) midieron porcentajes más bajos de ácido acético y mayores de ácido butírico en licor de rumen de ovinos alimentados con ensilaje de alfalfa en comparación a heno, en tanto que Thomas *et al.* (1961) encontraron que las proporciones molares de AGV con ambos tipos de forraje suministrados a vacas lecheras no difirieron significativamente. En gramíneas, no se observaron diferencias entre raciones de forraje fresco, heno o ensilaje (Thomson, 1968; Anderson y Jackson, 1971) aunque las raciones de ensilaje dieron origen a proporciones ligeramente más altas de los ácidos acético y butírico, y más bajas de ácido propiónico (Thompson, *loc. cit.*).

Resultados diferentes podrían obtenerse cuando los mismos forrajes conservados se suministran a discreción. Concentraciones más altas de AGV se han detectado en el licor de rumen de animales alimentados con heno o forraje deshidratado de gramíneas en comparación al ensilaje. Estas mayores concentraciones se han asociado con un mayor consumo del forraje deshidratado (Wernli y Wilkins, 1975) y con un mayor contenido total de digesta en el rumen de los animales alimentados con heno (Lawlor y O'Shea, 1967). Las raciones de heno y ensilaje dieron origen a proporciones similares de AGV en el rumen (Lawlor y O'Shea, *loc. cit.*) pero Wernli y Wilkins (1975) encontraron niveles significativamente mayores de ácidos acético, valérico, isobutírico e isovalérico, y menores proporciones de ácidos propiónico y n-butírico en el rumen de los animales alimentados con ensilaje que cuando recibieron forraje deshidratado y prensado.

En consecuencia, la información experimental publicada parece indicar que las raciones de ensilaje no están caracterizadas por ningún tipo de fermentación en particular. Este factor podría, por lo tanto, jugar un papel poco importante en las diferencias de eficiencia de utilización de la energía digerida entre forrajes conservados provenientes de una misma pradera.

c) *Energía utilizada en masticación.*

La cantidad de energía involucrada en el proceso de masticación (ingestión de alimentos y rumia), constituye otro factor que puede influir sobre la proporción de la energía metabolizable que finalmente se destina a fines productivos. Algunas evidencias experimentales indican que el tiempo destinado a masticación por unidad de alimento consumido es más prolongado para ensilaje que para heno o forraje deshidratado, particularmente con respecto al proceso de rumia (Cuadro 3). Esto se ha observado en experimentos en que los animales han recibido el alimento restringido o a discreción durante 5 ó 24 horas al día. Por este concepto, la eficiencia de utilización de la E.M. para raciones de ensilaje podría ser menor que para otros tipos de forraje, dependiendo de la magnitud de esta diferencia.

B. NITROGENO

La eficiencia de utilización del nitrógeno consumido y digerido ha demostrado ser inferior para ensilajes que cuando el mismo forraje se prepara en forma de heno o por deshidratación artificial (Figura 1). Esta baja utilización ha sido asociada con dos factores principales, viz. (i) la proporción relativamente alta (50-75%) de los componentes nitrogenados del ensilaje presentes en forma de nitrógeno no proteico de alta solubilidad (Hughes, 1970; Zelter, 1970), y (ii) el bajo contenido de carbohidratos fácilmente fermentables en los forrajes ensilados (Watson y Nash, 1960).

La alta solubilidad del nitrógeno (N) en ensilajes conduce a concentraciones elevadas de N amoniacal en el rumen, lo que a menudo resulta en altas pérdidas de N en la orina y con ello en bajos niveles de retención de nitrógeno. Al mismo tiempo, el bajo contenido o la disponibilidad limitada de los carbohidratos del alimento reduce muy probablemente la eficiencia del proceso de proteosíntesis microbiana en el rumen, lo que resulta en mayores niveles de amonia ruminal y menor retención de nitrógeno (O'Donovan, 1969; Barej, Garwacki y Kulasek, 1969). El uso relativamente ineficiente del N en dietas de ensilaje ha sido asociado con altas concentraciones de N amoniacal en el licor de rumen en los experimentos de Waldo *et al.* (1965), Fatianoff *et al.* (1966) y Durand *et al.* (1968) pero no por Waldo *et al.*

Cuadro 3 — Períodos de ingestión y rumia en raciones de ensilaje, heno o forraje deshidratado.

Régimen alimenticio	*Tiempo de masticación (min/Kg M.S. consumido)*[1] *Ingestión*	*Rumia*	*Total*	*Referencia*
Ensilaje *ad líbitum*	267,3	727,0	994,3	Dulphy, 1972 (Expto. I; ovinos)
Heno: „ „	240,9	546,7	787,6	„ „
Ensilaje: 700g MS/día	221,9	804,7	1026,6	„ „
Heno: „ „	129,2	712,1	841,3	„ „
Ensilaje *ad líbitum*	269,8[a]	722,9[a]	992,7	Dulphy, 1972 (Expto. II; ovinos)
Heno: „ „	266,3[a]	561,1[b]	827,4	„ „
Forraje fresco *ad líbitum*	308,2[b]	534,8[b]	843,0	„ „
Ensilaje: acceso 5 h.	36,4[a]	83,4[a]	119,8	Campling, 1966 (Expto. I; bovinos leche)
Heno: „ „	31,0[a]	73,6[b]	104,6	„ „
Ensilaje: acceso 5 h.	32,3[a]	69,4[a]	101,7	Campling, 1966 (Expto. II; bovinos leche)
Heno: „ „	30,1[a]	58,5[b]	88,6	„ „
Ensilaje: acceso 24 h.	58,1[a]	59,6[b]	117,7	„ „
Heno: „ „	37,7[a]	55,2[c]	92,9	„ „
Ensilaje: acceso 5 h.	30,8[a]	68,3[a]	99,1	Campling, 1966 (Expto. III; bovinos leche)
Heno: „ „	27,1[a]	59,9[b]	87,0	„ „
Ensilaje *ad líbitum*	156,6[a]	499,8[a]	655,4[a]	Wernli y Wilkins, 1975 (ovinos)
Forraje deshidratado *ad líbitum*	138,9[a]	356,6[b]	495,3[b]	„ „

[1]Superscriptos iguales dentro de una columna y experimento indican diferencias no estadísticamente significativas.

(1969) y Sutton y Vetter (1971), y con elevadas pérdidas de N en la orina en el ensayo de Durand *et al.* (1968). La baja eficiencia de utilización del N consumido o absorbido no parece reflejarse en niveles más altos de urea en la sangre (Durand *et al.*, 1968; Waldo *et al.*, 1969) a menos que el contenido de urea en la ración sea aumentada al suministrársele como suplemento del forraje (Zelter y Charlet-Lery, 1969).

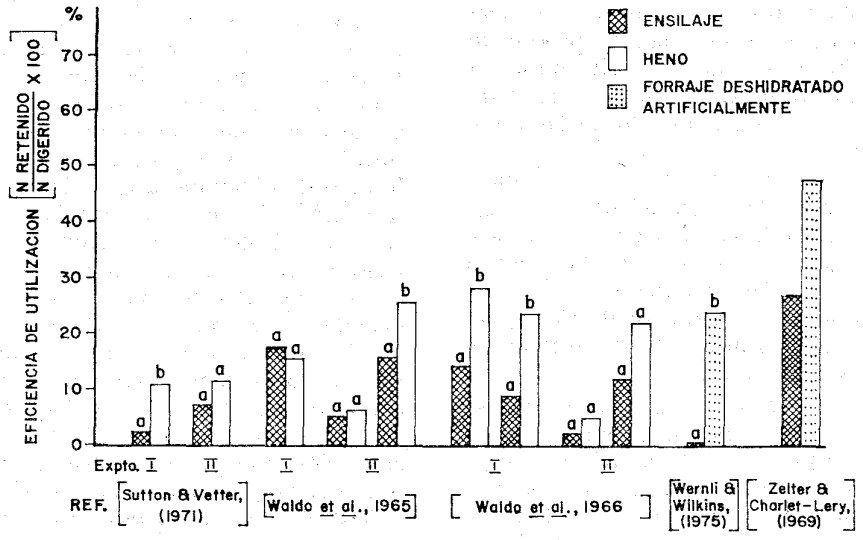

Figura 1 — Eficiencia de utilización del nitrógeno digerido en raciones de ensilaje, heno y forraje deshidratado artificialmente[1].

[1]Distintos superscriptos para columnas dentro de experimento denota diferencias estadísticamente significativas.

Efecto del marchitamiento sobre la utilización del nitrógeno en ensilajes.

El marchitamiento de un cultivo de alfalfa antes de ensilar ha mejorado considerablemente la retención de N y la eficiencia de utilización del N digerido (Zelter, 1970; Hawkins *et al.*, 1970; Sutton y Vetter, 1971). Esto ha sido asociado en los tres trabajos con niveles más bajos de N degradado en los ensilajes marchitos que en aquellos sin marchitar, aunque cabe atribuir en parte los resultados al mayor consumo voluntario con los ensilajes marchitos. El mayor balance nitrogenado observado a medida que aumentaba el porcentaje de M.S. del forraje en el ensayo de Hawkins *et al.* (1970) estaba asociado con una mayor relación aminoácidos esenciales: aminoácidos no esenciales en plasma sanguíneo.

En gramíneas se han encontrado resultados similares, aunque los efectos del marchitamiento parecen menos marcados que para los ensilajes de alfalfa. La eficiencia de utilización del N digerido para ensilajes de timothy-festuca con 18, 35 y 51% M.S. fue 20,4-21,4 y 32,1%, respectivamente. (Forbes y Jackson, 1971).

CONCLUSION

La digestibilidad de los forrajes ensilados está condicionada principalmente por la digestibilidad del forraje original. El proceso de fermentación del forraje en el silo puede alterar significativamente la digestibilidad del material ensilado, dependiendo de las características de esta fermentación. La digestibilidad de la M.S. del ensilaje se ve a menudo reducida, aunque la magnitud de este efecto es variable. La influencia del marchitamiento del forraje y el uso de aditivos sobre la digestibilidad de los ensilajes no está claramente definido, y se requiere de mayor información experimental que permita alcanzar conclusiones al respecto.

La utilización de la energía es un proceso complejo en el cual inciden diversos factores inherentes al forraje y al animal. Investigaciones llevadas a cabo en distintos laboratorios, utilizando diferentes tipos de alimentos y animales, han estudiado generalmente una o dos de las variables involucradas en la eficiencia de utilización de la energía digestible y metabolizable para fines de mantención y producción, y los resultados han sido variables. De esta información heterogénea y restringida, no es posible obtener un conocimiento cabal acerca de los factores que han conducido a la variación entre los resultados publicados. La eficiencia de utilización de la E.M. para raciones de ensilaje, en comparación al forraje fresco o heno de la misma pradera, pareciera no estar influenciada por la naturaleza de la fermentación ruminal, en tanto que diferencias en la actividad de masticación entre clases de forraje permiten suponer que la eficiencia de uso de la energía en raciones de ensilaje podría verse negativamente afectada por este concepto.

La eficiencia de utilización del nitrógeno en forrajes ensilados es generalmente inferior que para heno o forraje deshidratado artificialmente. Ello se atribuye en parte a la condición parcialmente degradada en que se encuentran la fracción proteica y energética en el ensilaje. Esta baja utilización del nitrógeno parece ser notoriamente mejorada a través del marchitamiento del forraje antes de ensilar.

CONSIDERACIONES GENERALES

(Capítulos I y II)

La limitante más importante de los ensilajes de alta calidad como alimento para rumiantes lo constituye su bajo consumo voluntario. Ello se traduce en que el valor nutritivo de los ensilajes —concepto que involucra el consumo, digestibilidad y eficiencia de utilización de los nutrientes digeridos— sea generalmente inferior que para el mismo forraje fresco o suministrado en forma de heno o deshidratado artificialmente. En consecuencia, el consumo de E.M. y P.D., así como los niveles de productividad, son característicamente bajos en animales alimentados con ensilaje. Por esta razón, la investigación debería ser orientada esencialmente hacia el estudio del consumo voluntario de los ensilajes, a fin de conocer en mejor forma aquellos factores responsables del bajo consumo y desarrollar sistemas de ensiladura y de alimentación que permiten alcanzar niveles de consumo más elevados. Existe también la necesidad de estudiar el uso de ensilajes suministrados en raciones mixtas, con el objeto de asegurar niveles elevados de productividad animal con dietas basadas en forrajes ensilados.

SUMMARY

THE NUTRITIVE VALUE OF SILAGE — A REVIEW — II. DIGESTION AND UTILIZATION

A previous paper (Chapter I) examined the factors affecting the voluntary consumption of silage. The present knowledge on the two other components of nutritive value (digestion and efficiency of utilization) is reviewed here, particularly comparing silage with the original forage fed fresh or conserved as hay or by artificial dehydration.

The digestibility of ensiled forages depends mainly on the digestibility of the original crop. The process of forage fermentation during ensiling may significantly influence the digestibility of the ensiled material. This effect will depend on the characteristics of the fermentation process. Digestibility of the dry matter of silage is often reduced, although the magnitude of this effect is variable.

The effect of wilting the forage and the use of additives prior to ensiling upon digestibility of ensilage is not clear and more information is needed to clarify this point.

The utilization of energy is a complex process, with several diet and animal factors playing an important role. Information on the efficiency of utilization of energy obtained from calorimetric studies or by the comparative slanghter technique is limited. Different laboratories have often studied only one or two of the variables involved in the utilization of digestible and metabolizable energy of silage for maintenance and productive purposes, and the results obtained have been variable. From these rectricted data it is not possible to obtain a complete understanding of the factors which have given rise to the variable results in published experiments. The nature of rumen fermentation appears not to differ markedly for animals fed silage, fresh forage or hay, and this factor will probably play a less important role on differences in efficiency of utilization of metabolizable energy between types of forage. Differences in mastication activity between these types of feed allows speculation on a possible negative influence by this concept upon the efficiency of utilization of energy in silage.

The efficiency of utilization of nitrogen is generally lower for silage than for hay or the artificially — dehydrated crop. This is partly attributed to the partially degraded condition of the protein and energy fractions in silage. This low utilization of nitrogen appears to be markedly improved by wilting the forage before ensiling.

Consideration of the published information reviewed in Chapters I and II leads to the conclusion that the most important limitation to high quality silage as a feed for ruminants is its low voluntary intake. For this reason, the intake of metabolizable energy and retention of nitrogen, as well as levels of animal production, are characteristically low in animals fed silage. It would seem logical, therefore, that most research effort should be placed on the study of the voluntary intake of silage, in an attempt to understand further the factors responsible for this low intake and to develop methods of ensiling or feeding whereby higher levels of comsumption can be achieved. There is also the need to study the use of silage fed in mixed diets, in order to ensure high levels of animal production from diets based on ensiled forage.

LITERATURA CITADA

ALDER, F. E., MC LEOD, D. S. & GIBBS, B. G. 1969. Comparative feeding value of silages made from wilted and unwilted grass and grass/clover herbage. J. Br. Grassld. Soc. 24: 199.

ANDERSON, B. K. & JACKSON, N. 1971. Volatile fatty acids in the rumen of sheep fed grass, unwilted and wilted silage, and barn-dried hay. J. Agric. Sci. 77: 483.

BAREJ, W., GARWACKI, S. & KULASEK, G. 1969. Wplywdawek o róznej wartósci energetycznej zawierajacych kazeine lub mocznik na przemiani w zwaczu owiec. Polskie Arch. wet. 11: 593.

BARRY, T. N., FENNESSY, P. F. & DUNCAN, S. J. 1973. Effect of formaldehyde treatment on the chemical composition and nutritive value of silage. 3. Voluntary intake, liveweight gain and wool growth

in sheep fed the silages with and without intraperitoneal supplementation with D - L methionine. N.Z.J. Agric. Res. 16: 59.

BEEVER, D. E., THOMSON, D. J., PFEFFER, E. & ARMSTRONG, D. G. 1971. The effect of drying and ensiling grass on its digestion in sheep. Sites of energy and carbohydrate digestion. Br. J. Nutr. 26: 123.

BROWN & VALENTINE, S. C. 1972. Formaldehyde as a silage additive. I. The chemical composition and nutritive value of frozen lucerne, lucerne silage and formaldehyde — treated silage. Austr. J. Agric. Res. 23: 1093.

CAMPLING, R. C. 1966. The intake of hay and silage by cows. J. Br. Grassld. Soc. 21: 41.

CANDEAU, M. 1969. Quelques observations liminaires concernant l'effect de l'ensilage et du foin sur l'evolution morphologique de la paroi et le fonctionnement métabolique précoces du rumen chez le veau préruminant. C.R. Acad. Sc. 268: 1823.

CANDLISH, E., CLARK, K. W. & INGALIS, J. R. 1973. Intake and digestibility of organic-acid treated barley silage fed to steers and sheep. Can. J. Anim. Sci. 53: 519.

CASTLE, M. E. & WATSON, J. N. 1970a. Silage and milk production, a comparison between grass silages made with and without formic acid. J. Br. Grassld. Soc. 25: 65.

——— & ———. 1970b. Silage and milk production, a comparison between wilted and unwilted grass silages made with and without formic acid. J. Br. Grassld. Soc. 25: 278.

——— & ———. 1973. Silage and milk production. A comparison between wilted grass silages made with and without formic acid. J. Br. Grassld. Soc. 28: 73.

COLOVOS, N. F., HOLTER, J. B., KOES, R. M., URBAN, W. E. & DAVIS, H. A. 1970. Digestibility, nutritive value and intake of ensiled corn plant *(Zea mays)* in cattle and sheep. J. Anim. Sci. 30: 819.

CUMMINS, D. G. & MC CULLOUGH, M. E. 1969. A comparison of the yield and quality of corn and sorghum silage. Univ. Georgia Coll. Agric. Exp. Stat. Res. Bull. Nº 67, Sept. 1969. p. 19.

DEMARQUILLY, C. 1973. Composition chimique, caractéristiques fermentaires, digestibilité et quantité ingérée des ensilages de fourrages: Modifications par rapport au fourrage vert initial. Ann. Zootech. 22: 1.

——— & ANDRIEU, J. 1972. Composition chimique, digestibilité et ingestibilité de la plante de tournesol sur pied et aprés ensilage. Ann. Zootech. 21: 147.

——— & JARRIGE, R. 1970. The effect of method of forage conservation on digestibility and voluntary intake. Proc. XI. Int. Grassld. Congr., Surfers Paradise. pp. 733-7.

DULPHY, J. P. 1972. Étude de quelques relations entre le mode de conservation du fourrage ingérée et le comportement alimentaire et mérycique des moutons. Ann. Zootech. 21: 429.

——— & DEMARQUILLY, C. 1973. Influence de la machine de récolte et de la finesse de hachage sur la valeur alimentaire des ensilages. Ann. Zootech. 22: 199.

DURAND, M., ZELTER, S. Z. & TISSERAND, J. L. 1968. Influence de quelques techniques de conservation sur l'efficacité de l'azote de la luzerne chez le mouton. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. 8: 45.

FATIANOFF, N., DURAND, M., TISSERAND, J. L. & ZELTER, S. Z. 1966. The effect of wilting, mineral acidification and sodium metabisulphite on quality and nitrogen efficiency of alfalfa silages. Int. Symp. Naturwiss. Grundlagen Silierung. Rostock.

FISHER, L. J., LESSARD, J. R. & LODGE, G. A. 1971. Utilization of formic acid treated sorghum-sudan silage by dairy cows. Can. J. Anim. Sci. 51: 371.

———, ——— & ———. 1972. Whole crop barley as conserved forage for lactating cows. Can. J. Anim. Sci. 52: 497.

FORBES, T. J. & IRWIN, J. H. 1968. The use of barn-dried hay and silage in fattening young beef cattle. J. Br. Grassld. Soc. 23: 299.

——— & JACKSON, N. 1971. A study of the utilization of silages of different dry-matter content by young beef cattle with or without supplementary barley. J. Br. Grassld. Soc. 26: 257.

HAMMES, R. C., BLASER, R. E., BRYANT, H. T., FONTENOT, J. P. & ENGEL, R. W. 1966. The value of alfalfa — orchardgrass silage and hay cut at different maturities. Virginia Agric. Exp. Stat. Bull. 567.

HARRIS, C. E. & RAYMOND, W. F. 1963. Effect of ensiling on crop digestibility. J. Br. Grassld. Soc. 18: 204.

———, ——— & WILSON, R. F. 1966. The voluntary intake of silage. Proc. X. Int. Grassld. Congr. Helsinki. pp. 564-7.

HAWKINS, D. R., HENDERSON, H. E. & PURSER, D. B. 1970. Effect of dry matter levels of alfalfa silage on intake and metabolism in the ruminant. J. Anim. Sci. 31: 617.

HUGHES, A. D. 1970. The non-protein nitrogen composition of grass silages. II. The changes occurring during the storage of silage. J. Agric. Sci. 75: 421.

JACKSON, N. & FORBES, T. J. 1970. The voluntary intake by cattle of four silages differing in dry matter content. Anim. Prod. 12: 591.

JOHNSON, R. R. & MC CLURE, K. E. 1968. Corn plant maturity. IV. Effects on digestibility on corn silage in sheep. J. Anim. Sci. 27: 535.

———, FARIA, V. P. & MC CLURE, K. E. 1971. Effects of maturity on chemical composition and digestibility of bird resistant sorghum plants when fed to sheep as silages. J. Anim. Sci. 33: 1102.

JONES, G. M., DONEFER, E., JAVED, A. H. & GAUDREAU, J. M. 1971. Intake and digestibility by sheep of wilted alfalfa-timothy or corn silages ensiled at low and high dry matter levels. J. Anim. Sci. 33: 1315.

KERR, J. A., MORRISON, J. & BROWN, W. O. 1963. A comparison of silage and barn-dried hay for beef production. J. Br. Grassld. Soc. 18: 262.

LAWLOR, M. J. & O'SHEA, J. 1967. A comparison of rumen characteristics of hay versus silage-fed animals. Ir. J. Agric. Res. 6: 119.

LOGAN, V. S. & HAYDON, P. S. 1964. The effect of moisture content of forage stored in polyvinil silos on intake and performance of dairy cows. Can. J. Anim. Sci. 44: 125.

MC CARRICK, R. B. 1965. Effects of stage of growth and method of herbage conservation on performance of weanling cattle. Ir. J. Agric. Res. 4: 161.

MELOTTI, L. 1969a. Determinação do valor nutritivo da silagem e do "rolao" de milho através de ensaio de digestibilidade (aparente) com carneiros. Bol. Ind. Anim. 26: 335.

———. 1969b. Determinação do valor nutritivo da silagem de sorgo *(Sorghum vulgare,* Pers.) var. Sta. Eliza, em cinco estágios de maturação, através de ensaio de digestibilidade (aparente) com carneiros. Bol. Ind. Anim. 26: 321.

MOGILEVSKII, YA. V. 1972. Perevarimost'travy, zakonservirovannoi s raznoi vlazhnost'yu. Zhivotnovodstvo, 2: 32.

MURDOCH, J. C. 1965. The effect of silage made from grass at different stages of maturity on the yield and composition of milk. J. Dairy Res. 32: 219.

O'DONOVAN, D. J. 1969. Urea metabolism in the ruminant. Vet. Rev. 20: 33.

PUECH, R., TISSERAND, J. L. & ZELTER, S. Z. 1968. Influence de la qualite de l'ensilage sur l'evolution de la cetonemie post-prandiale chez le mouton. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. 8: 69.

SCHULZ, E. & OSLAGE, H. J. 1967. Einfluss verschiedener konservierungsverfahren auf die Verdaulichkeit von Heu und Silagen. Wirtschaftseigene Futter, 4: 298.

SUTTON, A. L. & VETTER, R. L. 1971. Nitrogen studies with lambs fed alfalfa *(Medicago sativa)* as hay, low-moisture and highmoisture silages. J. Anim. Sci. 32: 1256.

THOMAS, J. W., BROWN, L. D., EMERY, R. S., BENNE, E. J. & HUBER, J. T. 1969. Comparison between alfalfa silage and hay. J. Dairy Sci. 52: 195.

———, INGALLS, J. R., YANG, M. & REDDY, B. S. 1961. Effect of *ad libitum* or equalized feeding of alfalfa hay or silage on rumen contents and its characteristics. J. Dairy Sci. 44: 1203.

THOMSON, D. J. 1968. The digestibility and utilization of fresh grass, hay and silage by sheep. Anim. Prod. 10: 240.

VALENTINE, S. C. & BROWN, D. C. 1973. Formaldehyde as a silage additive. II. The chemical composition and nutritive value of lucerne hay, lucerne silage and formaldehyde and formic acid-treated lucerne silages. Aust. J. Agric. Res. 24: 939.

VAN ES, A. J. & NIJKAMP, H. J. 1967. Energy, carbon and nitrogen balance experiments with non-lactating non-pregnant cows. Proc. IV. Symp. Energy Metabolism of Farm Animals. Warsaw. pp. 203-7.

WALDO, D. R., KEYS, J. E., SMITH, L. W. & GORDON, G. H. 1971. Effect of formic acid on recovery, intake, digestibility and growth from unwilted silage. J. Dairy Sci. 54: 77.

———, MILLER, R. W., OKAMOTO, M. & MOORE, L. A. 1965. Ruminant utilization of silage in relation to hay, pellets and hay plus grain. I. Composition, digestion, nitrogen balance, intake and growth. J. Dairy Sci. 48: 910.

———, ———, SMITH, L. W., OKAMOTO, M. & MOORE, L. A. 1966. The effect of direct-cut silage, compared to hay, on intake, digestibility, nitrogen utilization, heifer growth and rumen retention. Proc. X. Int. Grassld. Congress, 570.

———, SMITH, L. W., MILLER, R. W. & MOORE, L. A. 1969. Growth, intake and digestibility from formic acid silage versus hay. J. Dairy Sci. 52: 1609.

WATSON, S. J. & NASH, M. J. 1960. The conservation of grass and forage crops. Edinburgh. Oliver & Boyd.

WERNLI, C. 1975. El valor nutritivo de los forrajes ensilados. I. Consumo voluntario. Agricultura Técnica (Chile). 35 (1): 47-60.

——— & RIVADENEIRA, H. 1969. Ensilaje de alfalfa hecho en silo parva cilíndrico con y sin vacío. Agric. Téc. Supl. Dic. 1969, 29: 214.

———, ROMERO, J. y CABALLERO, H. 1967. Producción y valor nutritivo del ensilaje de maíz Eureka cosechado en distintos estados vegetativos y efecto de la suplementación proteica. I. Influencia del estado vegetativo. Agricultura Técnica (Chile). 27 (1): 9-15.

——— & WILKINS, R. J. 1975. Voluntary intake, digestibility and rumen parameters for sheep fed perennial ryegrass conserved by ensiling or by dehydration. (accepted J. Agric. Sci. *83*).

WILKINS, R. J., OSBOURN, D. F. & TAYLER, J. C. 1970. The feeding value of silages made from whole-crop barley. J. Br. Grassld. Soc. 25: 37.

WILSON, R. F., TERRY, R. A. & OSBOURN, D. F. 1969. A comparison of silage made in polyethylene containers with and without the removal of air by evacuation. J. Br. Grassld. Soc. 24: 119.

———— & WILKINS, R. J. 1973. Formic acid as a silage additive for wet crops of cocksfoot and lucerne. J. Agric. Sci. 80: 225.

ZELTER, S. Z. 1970. Causes et signification zootechnique des pertes de conservation par ensilage. Fourrages, 42: Juin 1970.

———— & CHARLET-LERY, G. 1969. Forme de présentation de l'aliment énergétique (orge immature) et taux de rétention de N — uréique chez le taurillon en croissance. C. R. Acad. Sc. 269: 1007.