

Effect of different nitrogen levels and irrigation techniques on the ruminal degradation of the crude protein of maize

Efecto de diferentes niveles de nitrógeno y técnicas de riego en la degradación ruminal de la proteína bruta del maíz

Barajas, R.¹, Díaz, T.², Flores, L.R.², Partida, L.², Martínez, M.³, Lomelí, J. J.¹ and Velázquez, T de J.²

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa, México

²Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Apdo. Postal 1057, Culiacán, Sinaloa, México, CP 80000

³Instituto de Ciencia Animal. Apartado Postal 24. San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.
Email: tdiaz10@hotmail.com

In order to determine the effect of ruminal degradation of maize crude protein obtained with two levels of nitrogen (300 and 400 kg ha⁻¹) and two irrigation techniques (gravity and drip), dacron bags (10 x 18 cm) which contained 5 g of maize were used. By introducing a cannula, the bags were inoculated for 0, 3, 6, 12 and 24 h in the rumen of four heifers. A completely randomized design was applied with factorial arrangement 2x2 of the treatments (nitrogen and irrigation technique). There were not statistical differences between the interactions of the variables under study ($P < 0.05$). However, drip irrigation vs gravity (8.72 vs 8.05%) and fertilization with 400 vs 300 kg de N ha⁻¹ (8.52 vs. 8.25 %) increased ($P \leq 0.05$) the crude protein content of the grain. The treatments did not affect ($P \geq 0.21$) the PC solubility (19.4 ± 2.85 %). The ruminal degradation of the maize CP in the different incubation times did not change ($P \geq 0.20$) by the maize grain obtained by means of irrigation technique or N levels used in maize production. The ruminal degradation rate of CP (0.10 ± 0.03) did not change ($P \geq 0.13$) by the treatments. The percentage of crude protein effectively degraded in the rumen (42.14 ± 2.83 %) was similar ($P \geq 0.48$) between treatments. Although the schemes of nitrogen levels or irrigation technique can modify the crude protein content in the maize grain, this did not influence on the characteristics of ruminal degradation of its crude protein.

Key words: *irrigation techniques, fermentation pattern, solubility.*

Introduction

The maize ranks third of cultivated area in the world, where more than 118 million hectares are planted with average production of about 600 million tons per year (Irfan *et al.* 2014) surface.

High doses of nitrogen fertilization increase the crude protein concentration in modern maize hybrids (Ferreira *et al.* 2005). Moreover, the uniform application and high irrigation doses modify the protein content in the grain, due to the ease of high production and assimilates translocation (Aydinsakir *et al.* 2013, Khalili *et al.* 2013).

Shah *et al.* (2003) found that drip irrigation produces a grain with high crude protein content than those found in maize irrigated by gravity. It is not known whether this change in the maize content has some influence on

Para determinar el efecto de la degradación ruminal de proteína bruta de maíz obtenido con dos niveles de nitrógeno (300 y 400 kg ha⁻¹) y dos técnicas de riego (gravedad y goteo), se utilizaron bolsas de dacron (10 x 18 cm) que contenían 5 g de maíz. Mediante la introducción de una cánula, las bolsas se inocularon durante 0, 3, 6, 12 y 24 h en el rumen de cuatro vaquillas. Se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 2 de los tratamientos (nitrógeno y técnica de riego). No se presentaron diferencias estadísticas entre las interacciones de las variables en estudio. Sin embargo, el riego por goteo vs gravedad (8.72 vs 8.05%) y la fertilización con 400 vs 300 kg de N ha⁻¹ (8.52 vs. 8.25 %) incrementaron ($P \leq 0.05$) el contenido de la proteína bruta del grano. Los tratamientos no afectaron ($P \geq 0.21$) la solubilidad de la PB (19.4 ± 2.85 %). La degradación ruminal de la PB de maíz en los diferentes tiempos de incubación no se modificó ($P \geq 0.20$) por el grano de maíz obtenido mediante la técnica de riego ni por los niveles de N usados en la producción de maíz. La tasa de degradación ruminal de PB (0.10 ± 0.03) no se alteró ($P \geq 0.13$) por los tratamientos. El porcentaje de proteína bruta efectivamente degradada en rumen (42.14 ± 2.83 %) fue similar ($P \geq 0.48$) entre los distintos tratamientos. Aunque los esquemas de niveles de nitrógeno o técnica de riego pueden modificar el contenido de proteína bruta en el grano de maíz, esto no influyó en las características de degradación ruminal de su proteína bruta.

Palabras clave: *técnicas de riego, patrón de fermentación, solubilidad.*

Introducción

El maíz ocupa el tercer lugar de superficie cultivada en el mundo, donde se siembran más de 118 millones de hectáreas con producción media de aproximadamente 600 millones de toneladas anuales (Irfan *et al.* 2014).

Las dosis elevadas de fertilización nitrogenada incrementan la concentración de proteína bruta en los híbridos modernos de maíz (Ferreira *et al.* 2005). Además, la aplicación uniforme y dosis altas de riego modifican el contenido de proteína en el grano, debido a la facilidad de mayor producción y translocación de asimilados (Aydinsakir *et al.* 2013, Khalili *et al.* 2013). Shah *et al.* (2003) encontraron que el riego por goteo produce un grano con mayor contenido de proteína bruta que el encontrado en maíces regados por gravedad. No se sabe si esta modificación en el contenido del maíz tiene

the ruminal degradation characteristics of maize protein. However, this grain is characterized by its importance as energy source for animal feeding, because it is rich in carbohydrates, as referred Ramalho *et al.* (2006). These authors showed that the starch sources are important in high producing animals, since they require high energy levels in the diet so that they can express their genetic potential.

The starch digestibility in dairy cows improves with maize diets, with mean particle size. However, although milk production and protein increases, the fat production in the milk is reduced (Danes *et al.* 2013). Protein supplements are an essential component of feed rations for cows of high dairy yield (Horký 2014). In addition, the modernization of agricultural practices, aimed to increase maize production, modifies, to some extent, the chemical composition of the grain, which leads to modify the diet for animal.

The objective of this experiment was to determine the nitrogen influence, at doses of 300 or 400 kg N ha⁻¹, and gravity or drip irrigation on the characteristics of the ruminal degradation of crude protein of white maize.

Materials and Methods

The research was conducted at Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa in Culiacan, Sinaloa, Mexico, located at 24° 50' NL, 107° 26' WL and 57.34 m o.s.l high. The climate of this area is classified as dry tropical, with average annual temperature of 24.8 °C, average annual rainfall of 645.6 mm and prevailing rains in summer. The annual average relative humidity is 68%.

A total of four Criollas x Simental heifers of 320 ± 20 kg average weight were used, with permanent ruminal cannula (C-4 Diamond®) of 10cm internal diameter. They were housed in individual pens (3.0 x 6.0 m) with feeder and drinker. Fifteen days before the experiment, the animals were adapted to intake a diet with 16.58 % of crude protein (CP); 7.10 MJ kg⁻¹ of maintenance Net Energy (mNE), with relation 30:70 of forage: concentrate. The diet composition is show in table 1.

During the adaptation and development of measurements, the diet was offered *ad libitum* (105 % of the intake of the previous day) in a single ration (0800). The food was served fresh and those which not intake was daily took away. Heifers had permanent access to clean and fresh water. On the third day of the beginning of the adaptation phase, the animals were internally and externally wormed (Closantel®, Cheminova of Mexico and Clorfenvifos®, Laboratorios Novartis) also 5 mL of vitamins A, D and E (Vitaflow®; Virbac) was intramuscularly injected.

Samples of 20 kg of white maize (hybrid Pantera from Asgrow Company) were used, which came from

alguna influencia en las características de la degradación ruminal de la proteína del maíz. Sin embargo, este grano se caracterizan por su importancia como fuente de energía para la alimentación animal, ya que es rico en hidratos de carbono, según refieren Ramalho *et al.* (2006). Estos autores señalan que las fuentes de almidón son importantes en los animales de alta producción, ya que requieren de altos niveles de energía en la dieta para que puedan expresar su potencial genético.

La digestibilidad del almidón en las vacas lecheras mejora con las dietas de maíz, con tamaño de partícula media. Sin embargo, aunque se incrementa la producción de leche y proteína, la producción de grasa en la leche se reduce (Danes *et al.* 2013). Los suplementos de proteínas representan un componente indispensable de las raciones de alimento para vacas de alto rendimiento lechero (Horký 2014). Además, la modernización de las prácticas agrícolas, orientadas a incrementar la producción de maíz, modifica, en alguna medida, la composición química del grano, lo que induce a modificar la dieta destinada al animal.

El objetivo de este experimento fue determinar la influencia del nitrógeno, en dosis de 300 o 400 kg de N ha⁻¹, y del riego por gravedad o goteo en las características de la degradación ruminal de la proteína bruta del maíz blanco.

Materiales y Métodos

La investigación se desarrolló en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa en Culiacán, Sinaloa, México, localizada a 24° 50' de latitud Norte, 107° 26' de longitud Oeste y a 57.34 msnm de altura. El clima de esta zona se clasifica como trópico seco, con temperatura media anual de 24.8 °C, precipitación pluvial media anual de 645.6 mm y lluvias predominantes en verano. La humedad relativa media anual es de 68 %

Se utilizaron cuatro vaquillas Criollas x Simental, de 320 ± 20 kg de peso promedio, con cánula ruminal permanente (C-4 Diamond®) de 10 cm de diámetro interno. Se alojaron en corraletas individuales (3.0 x 6.0 m) con comedero y bebedero. Quince días antes del experimento, los animales se adaptaron a consumir una dieta con 16.58 % de proteína bruta (PB); 7.10 MJ kg⁻¹ de Energía Neta de mantenimiento (ENm), con relación 30:70 de forraje: concentrado. La tabla 1 muestra la composición de la dieta.

Durante la adaptación y el desarrollo de las mediciones, la dieta se ofreció a libre acceso (105 % del consumo del día anterior) en una sola ración (0800). El alimento se sirvió fresco y el que no se consumió se retiró diariamente. Las vaquillas tuvieron acceso permanente a agua limpia y fresca. Al tercer día del inicio de la fase de adaptación, los animales se desparasitaron interna y externamente (Closantel®, Cheminova de México y Clorfenvifos®, Laboratorios Novartis), además se le inyectó 5 mL de vitaminas A, D y E (Vitafluid®; Virbac) por vía intramuscular.

Se utilizaron muestras de 20 kg de maíz blanco

Table 1. Protein and energy analysis of the diet intake by the animals during the experiment

Ingredients	Content based on dry matter
1. Diet	
Sudan hay (%)	30.42
Ground white maize (%)	41.07
Soybean paste (%)	13.18
Pork meal (%)	4.06
Molasses	8.45
Total Fattening Ganamin ¹ (%)	2.82
Total	100 %
Calculated analysis ²	
2. Protein and energy	
Crude Protein (%)	16.58
Maintenance Net Energy (MJ kg ⁻¹)	7.10
Gain Net Energy (MJ kg ⁻¹)	4.53

¹Total Fattening Ganamin® (Técnica Mineral Pecuaria, S.A. de C.V.), premixture containing: 20 mg I kg⁻¹; 8 mg Se kg⁻¹; 4 mg Co kg⁻¹; 160 mg Cu kg⁻¹; 2,000 mg Zn kg⁻¹; 1,200 mg Mn kg⁻¹; 800 mg Fe kg⁻¹; 0.18% S; 0.80% P; 21.28% Ca; 4.72% Na; 7.28% Cl; Vitamin A 64,000 IU kg⁻¹; Vitamin E 20,000 IU kg⁻¹; Vitamin D 300 IU kg⁻¹; 67.78% CP (NNP of urea), and 1 g of monensin sodium kg⁻¹ from Rumensin 200® (Elanco Animal Health).

²Calculated from published values (National Research Council 1996).

an experiment developed in a semiarid climate with summer rains and mean annual precipitation of 800mm. The soil was clayey, with field capacity (FC) of 57.5%, permanent wilting point (PWP) of 36.7%, bulk density (Bd) of 1.27 g cm⁻³, organic matter content of 0.82% (up 60 cm depth) and total nitrogen content of 0.037%, with different types of management: nitrogen fertilization with 300 or 400 kg ha⁻¹ and drip irrigation or gravity, which constituted the treatments of this experiment.

In order to evaluate the ruminal fermentation conditions during the test, soybean paste was included, when considering the available information about the performance of this ingredient in rumen. Samples were grounded at a particle size of 2 mm (Vanzant *et al.* 1998). In dacron bags (10 x 18 cm) 5 g of sample were placed on wet basis (13.21 mg cm⁻² ratio). The bags were tied with a nylon string and a space of 10 cm between each pair was left. One of the bags, with a weight of 200 g, was placed at the end of the line. At the upper end of the line 70 cm to be tied to the top of the cannula were left. Samples (150 g) of each of the maize introduced into the bags and of the soybean paste were taken. The maize samples were dried in a forced air oven at 105 °C for 24 h (AOAC 2012) to determine the amount of dry matter introduced in the bags. The bags were incubated in the rumen for 3, 6, 12 and 24 h and placed in reverse order to the incubation time. It was taken as the start time the moment in which the animals received the food (0800). When incubation time finish, the bags

(híbrido Pantera de la compañía Asgrow), que provenían de un experimento desarrollado en un clima semiárido con lluvias en verano y precipitación media anual de 800 mm. El suelo era de textura arcillosa, con capacidad de campo (CC) de 57.5%, punto de marchitamiento permanente (PMP) de 36.7%, densidad aparente (Da) de 1.27 g cm⁻³, contenido de materia orgánica de 0.82% (hasta profundidad de 60 cm) y contenido de nitrógeno total de 0.037 %, con diferentes tipos de manejo: fertilización nitrogenada con 300 o 400 kg ha⁻¹ y riego por goteo o gravedad, que constituyeron los tratamientos de este experimento.

Para evaluar las condiciones de la fermentación ruminal durante la prueba, se incluyó pasta de soya, al considerar la información disponible acerca del comportamiento de este ingrediente en rumen. Las muestras se molieron hasta alcanzar un tamaño de partícula de 2 mm (Vanzant *et al.* 1998). En bolsas de dacrón (10 x 18 cm) se colocaron 5 g de muestra en base húmeda (proporción de 13.21 mg cm⁻²). Las bolsas se ataron con un cordel de nailon y se dejó un espacio de 10 cm entre cada par. Una de las bolsas, con un lastre de 200 g, se colocó al final de la línea. En el extremo superior de la línea se dejaron 70 cm para atarse a la tapa de la cánula. Se tomaron muestras (150 g) de cada uno de los maíces introducidos en las bolsas y de la pasta de soya. Las muestras de maíz se secaron en estufa de aire forzado a 105 °C durante 24 h para determinar la cantidad de materia (AOAC 2012) seca que se introdujo en las bolsas.

Las bolsas se incubaron en el rumen durante 3, 6, 12

were removed from the rumen and washed with water until they were clean (Nocek 1988). Solubility was determined by immersing dacron bags in a 0.15 N solution of NaCl in distilled water at 39 °C for 5 min (Owens and Zinn 1982). The bags were dried in oven at 50 °C for 48 h and weighed. The contents of a couple of bags was a composite sample, to which it was determined CP (N x 6.25 Kjeldahl) (AOAC 2012). With the results, the ruminal degradation of CP was calculated (Schneider and Flatt 1975).

The results of the ruminal degradation of crude protein (CP) to different incubation times were used to calculate the indicators of the kinetics of ruminal degradation with the negative exponential model proposed by Ørskov and McDonald (1979) by the equation $P = a + b(1 - e^{-ct})$, where:

P – potentially degradable protein

a – soluble fraction

b - insoluble fraction but degradable of CP in rumen, there was enough time for it

c – constant degradation rate of the fraction b

t – time

Once obtained the indicators, the CP effectively degraded in the rumen was calculated with the formula: $P = a + ((bc)/(c + k))$ suggested by Ørskov and McDonald (1979), where "k" represents the rate of small particles flow through the rumen. According to the proportion of forage and concentrate of the diet offered to animals, $k = 0.03$ depending on the type of intake diet (Ørskov 1988).

Analysis of variance on the basis of a completely randomized design with factorial arrangement 2 x 2 was applied (Hicks 1973). A value of $\alpha = 0.05$ to accept statistical difference was fitted. The calculations were performed using version 8 of the software package Statistix™ (Statistix 2003).

Results and Discussion

The results of variance analysis for the studied variables indicated that there was no interaction between the study factors ($P > 0.05$). However, the content of crude protein (CP) in the maize which received drip irrigation was higher ($P \leq 0.05$) than the gravity irrigation (8.72 vs. 8.05%), which can be attributed to the efficiency of distribution of water and nutrients (N) with drip irrigation technique. These results agree with that informed by Shah *et al.* (2003). The maize that received the highest dose of N ha⁻¹ (400 kg) had a higher content ($P \leq 0.05$) of CP with respect to the fertilized with 300 kg ha⁻¹ of N (8.52 vs. 8.25%). It is expected that at higher concentration of nitrogen in the soil, the amount translocated to the grain maize from the root system is higher, which increases the CP content. This result agrees with that found by Ferreira *et al.* (2005), who appreciated increase in protein content in the grain as increased the amount of N applied in four maize

y 24 h y se introdujeron en orden inverso al tiempo de incubación. Se tomó como hora de inicio el momento en que los animales recibieron el alimento (0800). Al cumplir el tiempo de incubación, las bolsas se retiraron del rumen y se lavaron con agua corriente hasta que estuvieron limpias (Nocek 1988). La solubilidad se determinó por inmersión de las bolsas de dacrón en una solución 0.15 N de NaCl en agua destilada a 39 oC durante 5 min (Owens y Zinn 1982). Las bolsas se secaron en estufa a 50 °C durante 48 h y se pesaron. El contenido de un par de bolsas constituyó una muestra compuesta, a la que se le determinó PB (N x 6.25 kjeldahl) (AOAC 2012). Con los resultados se calculó la degradación ruminal de PB (Schneider y Flatt 1975).

Los resultados de la degradación ruminal de la proteína bruta (PB) a los diferentes tiempos de incubación se utilizaron para calcular los indicadores de la cinética de degradación ruminal con el modelo exponencial negativo propuesto por Ørskov y McDonald (1979) mediante la ecuación $P = a + b(1 - e^{-ct})$, donde:

P - proteína potencialmente degradable

a - fracción soluble

b - fracción insoluble pero degradable de la PB en rumen, si hubo tiempo suficiente para ello c - tasa constante de degradación de la fracción b

t – tiempo

Una vez obtenidos los indicadores, se calculó la PB efectivamente degradada en rumen con la fórmula: $P = a + ((bc)/(c + k))$ sugerida por Ørskov y McDonald (1979), donde "k" representa el ritmo de flujo de las partículas pequeñas en el rumen. De acuerdo con la proporción de forraje y concentrado de la dieta ofrecida a los animales, $k = 0.03$ según el tipo de dieta consumida (Ørskov 1988).

Se aplicó análisis de varianza sobre la base de un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 2 (Hicks 1973). Se fijó un valor de $\alpha = 0.05$ para aceptar diferencia estadísticas. Los cálculos se efectuaron mediante la versión 8 del paquete computacional Statistix™ (Statistix 2003).

Resultados y Discusión

Los resultados del análisis de varianza para las variables estudiadas indicaron que no hubo interacción entre los factores de estudio ($P > 0.05$). Sin embargo, el contenido de proteína bruta (PB) en el maíz que recibió riego por goteo fue mayor ($P \leq 0.05$) que el regado por gravedad (8.72 vs. 8.05 %), lo que se puede atribuir a la eficiencia de distribución del agua y los nutrientes (N) con la técnica de riego por goteo. Estos resultados concuerdan con lo informado por Shah *et al.* (2003). El maíz que recibió la dosis mayor de N ha⁻¹ (400 kg) tuvo un contenido más alto ($P \leq 0.05$) de PB con respecto al fertilizado con de 300 kg ha⁻¹ de N (8.52 vs. 8.25%). Es de esperar que a mayor concentración de nitrógeno en el suelo la cantidad traslocada al grano de maíz desde el sistema de raíces sea mayor, lo que eleva el contenido

hybrids. The average value of 8.39% of CP found in this experiment in grains of white maize from the Pantera of Asgrow hybrid, although it was lower at $9.8 \pm .55\%$ attributed by the National Research Council (1996), they corresponds with the CP values between 8% and 9%, which are normally found in modern maize hybrids released from the nineties (Lykos and Varga 1995, Ferreira *et al.* 2005, Corona *et al.* 2006).

The fermentation pattern that showed the CP of the soybean paste in this experiment is described in the equation $P = 31.78 + 53.38 (1 - e^{-0.076 t})$; $R^2 = 0.96$ ($P \leq 0.001$). The solubility of 31.78% of the soybean paste CP was close to the values of 28.5% and 29% referred in others papers (Kirkpatrick and Kennelly 1987 Canbolat *et al.* 2007). The percentage degradation of CP in soybean paste at 24 h of incubation in rumen was 85.16%, 88.7% value close to that informed by Kirkpatrick and Kennelly (1987) in Holstein heifers. The fermentation pattern in rumen exhibited by soybean paste coincides with expectations according to the information available in the literature (Kirkpatrick and Kennelly 1987, Canbolat *et al.* 2007), so it is assumed that the conditions which prevailed in rumen during the test were normal. The results obtained with maize and the comparison between the different treatments can be considered reliable.

The influence of treatments on the ruminal degradation of maize CP is presented in Table 2. The different fertilization and irrigation schemes did not change ($p \leq 0.21$) the solubility of the maize CP, which was as average $19.4 \pm 2.85\%$. This value was close to the 22.3% found by Lykos and Varga (1995) in ground yellow maize. The treatments had no effect ($P \leq 0.20$) on the ruminal degradability of maize CP in any of incubation times. The average value ($38.49 \pm 4.18\%$) obtained at 12 h and the $49.71 \pm 4.59\%$, found at 24 h in this experiment, are close to 40 and 48 % estimated by Wanderley *et al.* (1993) in yellow maize at the same incubation times, after correcting the influence of microbial contamination. The degradation rate of the maize CP was similar ($P \leq 0.13$) in the different treatments averaging 0.10 ± 0.03 . This value is in the range between 0.08 and 0.10, established by the National Research Council (1996) for the cracked yellow maize. The maize CP effectively degraded in the rumen was similar ($P \leq 0.48$) between the four treatments, with an average of $42.14 \pm 2.83\%$. This value, calculated on the basis of nylon bags technique, corresponds with 41.87 % determined by Prigge *et al.* (1978) in dry rolled maize, when measuring duodenal flow, and with 43% calculated by Stern *et al.* (1983) for maize gluten protein. Barajas and Zinn (1998), with measurements from the flow to the duodenum in heifers, estimated at 42.8% the ruminal degradation of the protein of dry cracked yellow maize. Corona

de PB. Este resultado coincide con lo encontrado por Ferreira *et al.* (2005), quienes apreciaron incremento en el contenido de proteína en el grano a medida que aumentó la cantidad de N aplicado en cuatro híbridos de maíz. El valor promedio de 8.39 % de PB encontrado en este experimento en los granos del maíz blanco del híbrido Pantera de Asgrow, aunque fue menor al $9.8 \pm .55\%$ atribuido por el National Research Council (1996), se corresponde con los valores de PB entre 8 % y 9 %, que se encuentran normalmente en los híbridos modernos de maíz liberados a partir de la década de los noventa (Lykos y Varga 1995, Ferreira *et al.* 2005, Corona *et al.* 2006).

El patrón de fermentación que exhibió la PB de la pasta de soya en este experimento se describe en la ecuación $P = 31.78 + 53.38 (1 - e^{-0.076 t})$; $R^2 = 0.96$ ($P \leq 0.001$). La solubilidad de 31.78 % de la PB de la pasta de soya estuvo cerca de los valores de 28.5 % y 29 % referidos en otros trabajos (Kirkpatrick y Kennelly 1987, Canbolat *et al.* 2007). El porcentaje de degradación de PB en pasta de soya a las 24 h de incubación en rumen fue de 85.16 %, valor cercano al 88.7 % informado por Kirkpatrick y Kennelly (1987) en vaquillas Holstein. El patrón de fermentación en rumen exhibido por la pasta de soya coincide con lo esperado de acuerdo con la información disponible en la literatura (Kirkpatrick y Kennelly 1987, Canbolat *et al.* 2007), por lo que se asume que las condiciones que prevalecieron en rumen durante la prueba fueron normales. Los resultados obtenidos con maíz y la comparación entre los distintos tratamientos se pueden considerar confiables.

La influencia de los tratamientos en la degradación ruminal de la PB del maíz se presentan en la tabla 2. Los distintos esquemas de fertilización y riego no modificaron ($p \leq 0.21$) la solubilidad de la PB del maíz, que fue como promedio $19.4 \pm 2.85\%$. Este valor estuvo cercano al 22.3 % encontrado por Lykos y Varga (1995) en maíz amarillo molido. Los tratamientos no influyeron ($P \leq 0.20$) en la degradabilidad ruminal de la PB del maíz en ninguno de los tiempos de incubación. El valor promedio ($38.49 \pm 4.18\%$) obtenido a las 12 h y el de $49.71 \pm 4.59\%$, encontrado a las 24 h en este experimento, se acercan al 40 y 48 % estimado por Wanderley *et al.* (1993) en maíz amarillo a los mismos tiempos de incubación, después de corregir la influencia de la contaminación microbiana. La tasa de degradación de la PB del maíz fue similar ($P \leq 0.13$) en los diferentes tratamientos con un promedio de 0.10 ± 0.03 . Este valor se halla en el rango entre 0.08 y 0.10, establecido por National Research Council (1996) para el maíz amarillo quebrado. La PB del maíz efectivamente degradada en rumen fue similar ($P \leq 0.48$) entre los cuatro tratamientos, con promedio de $42.14 \pm 2.83\%$. Este valor, calculado sobre la base de la técnica de bolsa de nailon, se corresponde con el 41.87 % determinado por Prigge *et al.* (1978) en maíz rolando en seco, al medir el flujo a duodeno, y con el 43 % calculado por Stern *et al.* (1983) para la proteína del gluten de maíz. Barajas y Zinn (1998), con mediciones del flujo al duodeno en vaquillas, estimaron en 42.8 %

Table 2. Values of crude protein degradation of the white maize grain in the cattle rumen

Variables	Treatments				SEM ¹	P value
	Drip		Gravity			
Type of irrigation						
Fertilization (N in kg ha ⁻¹)	300	400	300	400		
Repetitions	4	4	4	4		
Incubation time in rumen						
3 h	34.54	31.07	31.59	28.35	2.85	0.24
6 h	32.10	32.79	32.57	32.46	1.53	0.64
12 h	39.53	35.76	39.90	38.76	4.18	0.76
24 h	49.90	50.06	49.85	49.01	4.59	0.99
Soluble CP (%) ²	19.28	19.59	22.13	16.54	3.17	0.21
Degradable CP (%) ³	30.54	30.64	27.71	32.48	5.35	0.54
Degradation rate (%/h) ⁴	0.086	0.084	0.127	0.113	0.03	0.13
Determination coefficient R ²	0.87	0.94	0.92	0.94	0.06	0.29
CPEDR (%) ⁵	41.66	41.17	43.68	42.07	2.83	0.48

¹Standard error of the mean

²Soluble fraction of the CP (a).

³Insoluble but degradable fraction if there was enough time (b).

⁴Constant degradation rate (c) of the fraction "b".

⁵CPEDR = Crude protein effectively degraded in rumen, calculated with a value of k = 0.03 estimated as the passing rate in rumen of the small particles.

et al. (2006) measured the flow to the duodenum in steers fed maize dry processing or steam- flaked from four hybrids, with CP content ranging between 8.1 and 8.7%. These authors found no influence of grain protein level on the ruminal degradation of CP, which estimated at 44.8%. The National Research Council (1996) attributed to dry rolled maize a content of 45% of CP degradable in rumen.

Although the fertilization and irrigation schemes allow modify the CP content of maize grain (Shah *et al.* 2003, Ferreira *et al.* 2005), apparently have no major effect on the rate or extent to which their proteins are degraded in the rumen, confirming the findings of Redd *et al.* (1975). These authors did not observed change in the amount of protein that came to abomasums in young bull fed with normal maize or opaque-2 maize, which is a variety with higher crude protein content. Harrelson *et al.* (2009) found no differences in ruminal degradation of six maize hybrids dry processed.

The difference in the crude protein content of the grain, as a result of the different management which was given to the maize, did not influence on the extent of protein degradation by ruminal microbiota.

la degradación ruminal de la proteína de maíz amarillo quebrado en seco. Corona *et al.* (2006) midieron el flujo al duodeno en novillos alimentados con maíz procesado en seco u hojueado al vapor procedente de cuatro híbridos, con contenido de PB que fluctuó entre 8.1 y 8.7 %. Estos autores no encontraron influencia del nivel de proteína del grano en la degradación ruminal de la PB, que estimaron en 44.8%. El National Research Council (1996) atribuye al maíz rolado en seco un contenido de 45 % de PB degradable en rumen.

Aunque los esquemas de fertilización y riego permitan modificar el contenido de PB del grano de maíz (Shah *et al.* 2003, Ferreira *et al.* 2005), aparentemente no tienen mayor efecto en la velocidad o extensión con que sus proteínas se degradan en el rumen, lo que confirma los hallazgos de Redd *et al.* (1975). Estos autores no observaron cambio en la cantidad de proteína que llegó al abomaso en novillos alimentados con maíz normal o con maíz opaco-2, que es una variedad con mayor contenido de proteína bruta. Harrelson *et al.* (2009) tampoco encontraron diferencias en la degradación ruminal de seis híbridos de maíz procesados en seco.

La diferencia en el contenido de proteína bruta del grano, como consecuencia del manejo diferente que se dio al maíz, no influyó en la magnitud de la degradación de la proteína por la microbiota ruminal.

References

- AOAC. 2012. Official Methods of Analysis of AOAC International. 19th ed., Gaithersburg, Md.: AOAC International, ISBN: 978-0-935584-83-7, Available: <http://www.amazon.com/Official-Methods-Analysis-OFFICIAL-ANALYSIS/dp/0935584838/ref=pd_sim_sbs_14_1?ie=UTF8&dpID=31iikC-xl2L&dpSrc=sims&preST=_AC_UL160_SR160%2C160_&refRID=101AB94246X0EM9N7XMW>, [Consulted: April 1, 2016]
- Aydinsakir, K., Erdal, S., Buyuktas, D., Bastug, R. & Toker, R. 2013. "The influence of regular deficit irrigation applications

- on water use, yield, and quality components of two maize (*Zea mays* L.) genotypes”. *Agricultural Water Management*, 128: 65–71, ISSN: 0378-3774, DOI: 10.1016/j.agwat.2013.06.013.
- Barajas, R. & Zinn, R. A. 1998. “The feeding value of dry-rolled and steam-flaked maize in finishing diets for feedlot cattle: influence of protein supplementation”. *Journal of animal science*, 76(7): 1744–1752, ISSN: 0021-8812, DOI: /1998.7671744x.
- Canbolat, O., Kamalak, A., Efe, E., Sahin, M. & Ozkan, C. O. 2007. “Effect of heat treatment on *in situ* rumen degradability and *in vitro* gas production of full-fat soybeans and soybean meal”. *South African Journal of Animal Science*, 35(3): 186–194, ISSN: 2221-4062, DOI: 10.4314/sajas.v35i3.4058.
- Corona, L., Owens, F. N. & Zinn, R. A. 2006. “Impact of maize vitreoumanagementness and processing on site and extent of digestion by feedlot cattle”. *Journal of Animal Science*, 84(11): 3020–3031, ISSN: 0021-8812, 1525-3163, DOI: 10.2527/jas.2005-603.
- Danes, M. A. C., Chagas, L. J., Pedroso, A. M. & Santos, F. A. P. 2013. “Effect of protein supplementation on milk production and metabolism of dairy cows grazing tropical grass”. *Journal of Dairy Science*, 96(1): 407–419, ISSN: 0022-0302, DOI: 10.3168/jds.2012-5607.
- Ferreira, da S. P. R., Strieder, M. L., da Silva, C. R. P., Rambo, L., Sangoi, L., Argenta, G., Forsthofer, E. L. & Alves, da S. A. 2005. “Grain yield and kernel crude protein content increases of maize hybrids with late nitrogen side-dressing”. *Scientia Agrícola*, 62(5): 487–492, ISSN: 0103-9016, DOI: 10.1590/S0103-90162005000500014.
- Harrelson, F. W., Luebke, M. K., Meyer, N. F., Erickson, G. E., Klopfenstein, T. J., Jackson, D. S. & Fithian, W. A. 2009. “Influence of maize hybrid and processing method on nutrient digestibility, finishing performance, and carcass characteristics”. *Journal of Animal Science*, 87(7): 2323–2332, ISSN: 0021-8812, 1525-3163, DOI: 10.2527/jas.2008-1527.
- Hicks, C. R. 1973. *Fundamental concepts in the design of experiments*. Michigan, USA: Holt, Rinehart and Winston, 372 p., ISBN: 978-0-03-080132-7, Available: <https://books.google.co.in/books/about/Fundamental_concepts_in_the_design_of_ex.html?id=TuVQAAAAMAAJ>, [Consulted: May 19, 2016].
- Horký, P. 2014. “Effect of Protein Concentrate Supplement on the Qualitative and Quantitative Parameters of Milk from Dairy Cows in Organic Farming”. *Annals of Animal Science*, 14(2): 341–352, ISSN: 1642-3402, DOI: 10.2478/aoas-2014-0008.
- Irfan, M., Arshad, M., Shakoor, A. & Anjum, L. 2014. “Impact of irrigation management practices and water quality on maize production and water use efficiency”. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 24(5): 1518–1524, ISSN: 1018-7081.
- Khalili, M., Naghavi, M. R., Aboughadareh, A. P. & Rad, H. N. 2013. “Effects of Drought Stress on Yield and Yield Components in Maize cultivars (*Zea mays* L.)”. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4(4): 809–812, ISSN: 2051-1914.
- Kirkpatrick, B. K. & Kennelly, J. J. 1987. “*In situ* degradability of protein and dry matter from single protein sources and from a total diet”. *Journal of Animal Science*, 65(2): 567–576, ISSN: 0021-8812, DOI: 10.2134/jas1987.652567x.
- Lykos, T. & Varga, G. A. 1995. “Effects of processing method on degradation characteristics of protein and carbohydrate sources *in situ*”. *Journal of Dairy Science*, 78(8): 1789–1801, ISSN: 0022-0302, DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(95)76804-7.
- National Research Council 1996. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 7th ed., Washington, D.C.: National Academies Press, ISBN: 978-0-309-06934-2, Available: <<http://www.nap.edu/catalog/9791>>, [Consulted: May 19, 2016].
- Nocek, J. E. 1988. “*In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review”. *Journal of Dairy Science*, 71(8): 2051–2069, ISSN: 0022-0302, DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(88)79781-7.
- Ørskov, E. R. 1988. *Nutrición proteica de los rumiantes*. Zaragoza, España: Acribia, 178 p., ISBN: 978-84-200-0627-7.
- Ørskov, E. R. & McDonald, I. 1979. “The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage”. *The Journal of Agricultural Science*, 92(2): 499–503, ISSN: 1469-5146, DOI: 10.1017/S0021859600063048.
- Owens, F. N. & Zinn, R. A. 1982. “The standard reference system of protein bypass estimation”. In: Owens, F. N. (ed.), *Protein Requirements for Cattle: Symposium*, Stillwater, Oklahoma: Oklahoma State University, p. 363, MP-109.
- Prigge, E. C., Galyean, M. L., Owens, F. N., Wagner, D. G. & Johnson, R. R. 1978. “Microbial Protein Synthesis in Steers Fed Processed Maize Rations”. *Journal of Animal Science*, 46(1): 249–254, ISSN: 0021-8812, DOI: 10.2134/jas1978.461249x.
- Ramalho, R. P., Ferreira, M. de A., Vêras, A. S. C., Lima, L. E. de & Rocha, V. R. R. A. 2006. “Substituição do milho pela raspa de mandioca em dietas para vacas primíparas em lactação”. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(3): 1221–1227, ISSN: 1806-9290.
- Redd, T. L., Boling, J. A., Bradley, N. W. & Ely, D. G. 1975. “Abomasal Amino Acids and Plasma Nitrogen Constituents in the Bovine Fed Normal or Maize”. *Journal of Animal Science*, 40(3): 567–572, ISSN: 0021-8812, DOI: 10.2134/jas1975.403567x.
- Schneider, B. H. & Flatt, W. P. 1975. *The evaluation of feeds through digestibility experiments*. Georgia, U.S.A: University of Georgia Press, 456 p., Available: <https://books.google.com/cu/books/about/The_evaluation_of_feeds_through_digestib.html?id=M9MqAQAAMAAJ&redir_esc=y>, [Consulted: May 19, 2016].
- Shah, S. H., Ahmad, F., Saleem, M. F. & Zamir, S. I. 2003. “Effect of planting patterns on water use efficiency and agronomic characteristics of maize (*Zea mays* L.)”. *Pakistan Journal of Water Resources*, 7(2): 11–14, ISSN: 1021-5409.
- Statistix 2003. *Statistix 8: User’s Manual*. Tallahassee, FL: Analytical Software, 396 p., ISBN: 978-1-881789-06-2, Available: <https://books.google.com/cu/books/about/Statistix_8.html?id=-x_mAAAACAAJ&redir_esc=y>, [Consulted: May 19, 2016].
- Stern, M. D., Rode, L. M., Prange, R. W., Stauffacher, R. H. & Satter, L. D. 1983. “Ruminal Protein Degradation of Maize Gluten Meal in Lactating Dairy Cattle Fitted with Duodenal T-Type Cannulae”. *Journal of Animal Science*, 56(1): 194–205, ISSN: 0021-8812, DOI: 10.2134/jas1983.561194x.
- Vanzant, E. S., Cochran, R. C. & Titgemeyer, E. C. 1998. “Standardization of *in situ* techniques for ruminant feedstuff evaluation”. *Journal of animal science*, 76(10): 2717–2729, ISSN: 0021-8812, DOI: /1998.76102717x.

Wanderley, R. C., Huber, J. T., Wu, Z., Pessarakli, M. & Fontes, C. 1993. "Influence of microbial colonization of feed particles on determination of nitrogen degradability by *in situ* incubation". Journal of animal science, 71(11): 3073–3077, ISSN: 0021-8812, DOI: /1993.71113073x.

Received: May 5, 2015