

**«ORIGEN Y DEGRADACION DE LOS ACIDOS NUCLEICOS
PRESENTES EN EL TRACTO DIGESTIVO DE LOS
OVIDOS» ***

*Por Ana María Martínez
Arias*

INDICE

CAPITULO I.—Revisión bibliográfica.—I.I. Nitrógeno alimentario y nitrógeno microbiano.—I.II. Acidos nucleicos alimentarios.—I.III. Degradación y síntesis de los ácidos nucleicos.—I.IV. Importancia de los ácidos nucleicos en la alimentación animal.—CAPITULO II.—Material y métodos.—II.I. Animales experimentales.—II.II. Regímenes alimenticios.—II.III. Operaciones quirúrgicas.—II.IV. Recogida de muestras.—II.V. Métodos analíticos.—CAPITULO III.—Acidos nucleicos presentes en el contenido del aparato digestivo.—EXPERIMENTOS Y RESULTADOS.—III.I. Ovidos adultos.—A) Porcentaje de recuperación de los ácidos nucleicos añadidos al aparato digestivo.—B) Análisis de la dieta.—C) Análisis del contenido ruminal.—a) Fraccionamiento del contenido ruminal y análisis de cada fracción.—b) Materia seca del contenido ruminal recogido por tres métodos distintos.—c) Variaciones diurnas en el contenido del rumen y del duodeno.—D) Análisis del contenido del rumen, librillo, cuajar, duodeno, íleo y ciego de óvidos adultos cuya ración diaria se suministró en dos tomas.—E) Análisis del contenido del rumen, librillo y duodeno del carnero n.º 5 cuya ración diaria se suministró en 12 tomas.—F) Composición de las heces.—III.II. Corderos.—A) Grupo a.—B) Grupo b.—III.III. Conejos.—DISCUSION.—CAPITULO IV.—Flujo del contenido gastrointestinal y de los ácidos nucleicos en el tracto alimentario.—EXPERIMENTOS Y RESULTADOS.—IV.I. Ovidos adultos.—A) Recuperación del PEG añadido al contenido de distintos tramos del aparato digestivo.—B) Flujo del contenido gastrointestinal y de los ácidos nucleicos.—C) Volumen del rumen.—IV.II. Corderos.—IV.III. Conejos.—DISCUSION.—CAPITULO V.—Degradación de los ácidos nucleicos en el aparato digestivo de los óvidos.—EXPERIMENTOS Y RESULTADOS.—V.I. Incubación del RNA con el contenido ruminal.—A) «in vivo».—B) «in vitro».—V.II. Digestibilidad aparente de los ácidos nucleicos.—DISCUSION.—CAPITULO VI.—Excreción de alantoína.—EXPERIMENTOS Y RESULTADOS.—VI.I. Ovidos adultos.—A) Animal n.º 3 alimenticio con heno y maíz.—B) Animal n.º 2 alimentado con alfalfa.—C) Animal n.º 5 alimentado con alfalfa.—D) Animales Núms. 7 y 8 alimentados con heno y maíz.—VI.II. Corderos.—VI.III. Conejos.—DISCUSION.—CONCLUSIONES.—RESUMEN.—AGRADECIMIENTOS.—BIBLIOGRAFIA.

* El autor de esta Memoria ha disfrutado una Beca del Plan de Formación de Personal Investigador, concedida por el Ministerio de Educación y Ciencia a través de la Universidad de Oviedo.

INDICE DE FIGURAS

FIGURA I.—Esquema de las operaciones quirúrgicas realizadas en los animales números 7, 8 y 9.—FIGURA II.—Variaciones diurnas en la concentración de sustancia seca y del N-DNA en el rumen y en el duodeno.—FIGURA III.—Concentración de PEG en el contenido del rumen y del duodeno tras la adición de una dosis de PEG al rumen.—FIGURA IV.—Concentración de PEG en el contenido ruminal en el experimento número 1.—FIGURA V.—Paso del N nucleico a lo largo del tracto digestivo.

ABREVIATURAS

En esta Memoria se han utilizado las siguientes abreviaturas:

h-m = dieta de heno troceado y maíz en copos.
h-m/2 = dieta de heno troceado y maíz en copos administrada en dos tomas diarias.
H-m/12 = dieta de heno troceado y maíz en copos administrada en doce tomas diarias.
a = dieta de alfalfa granulada.
a/2 = dieta de alfalfa granulada administrada en dos tomas diarias.
a/12 = dieta de alfalfa granulada administrada en doce tomas diarias.
M. S. = materia seca.
PEG = polietilenglicol.
A. N. = ácidos nucleicos.
N.A. N. = nitrógeno nucleico total.
N-DNA = nitrógeno perteneciente al DNA.
N-RNA = nitrógeno perteneciente al RNA.
R = rumen.
L = librillo.
Cu = cuajar.
D = duodeno.
I = ileo.
Ci = ciego.
H = heces.

CAPITULO I

REVISION-BIBLIOGRAFICA

1.1. Nitrógeno alimentario y nitrógeno microbiano.

Las especiales características del aparato digestivo de los herbívoros hace posible que sean capaces de utilizar alimentos groseros, impropios para la alimentación de otros animales. Los prestómagos de los rumiantes y el ciego de los solípedos reúnen las condiciones adecuadas para el desarrollo de una flora microbiana anaeróbica que juega un papel primordial en la utilización de los alimentos ingeridos por el animal.

El primer prestómago de los rumiantes, el rumen o panza, es el más voluminoso, comunica con el segundo, llamado retículo, redécilla o bonete, por un amplio orificio y está dotado de movimientos que mezclan su contenido con el del retículo. La capacidad conjunta de ambos compartimientos equivale aproximadamente a los dos tercios de la cavidad abdominal o al 70 % del contenido del aparato digestivo (PHILLIPSON, 1963) o entre un séptimo y un décimo del peso total del animal (HUNGATE, 1966).

El tercer compartimiento, el salterio o librillo, se encuentra a la derecha del rumen-retículo, comunica con el retículo por un orificio pequeño que solamente permite el paso de partículas finamente divididas y por lo tanto obliga a los alimentos ingeridos a permanecer en el rumen durante un tiempo considerable. El librillo comunica con el cuarto compartimiento que es el cuajar o verdadero estómago, donde ocurre la digestión gástrica.

El rumen y el retículo albergan un gran número de bacterias y protozoos que juegan un papel primordial en el metabolismo del rumiante.

El papel de los microorganismos ruminales en el metabolismo de los hidratos de carbono ha sido estudiado detenidamente. Podría resumirse diciendo que la fermentación microbiana es ventajosa para el animal en cuanto que le permite utilizar productos como la celulosa, que serían indigestibles sin la acción microbiana, pero en cambio tiene el inconveniente de que los hidratos de carbono fácilmente digeribles como el almidón y la glucosa, son rápidamente fermentados ocasionando la consiguiente pérdida energética que se evitaría si fueran hidrolizados por las enzimas intestinales.

El nitrógeno de la dieta, puede encontrarse en forma de nitrógeno proteico o de nitrógeno no proteico (NNP). La mayor parte del nitrógeno de los forrajes se encuentra en forma proteica, si bien existe una proporción variable de NNP; dicha fracción nitrogenada, que consta de amidas, sales amoniacales, aminoácidos, ácidos nucleicos y otros compuestos, puede llegar a representar la tercera parte del nitrógeno total de la hierba y una proporción superior en las raíces y tubérculos. De aquí la distinción entre proteína bruta y proteína verdadera; la primera es indicativa del nitrógeno total, ya que se obtiene multiplicando el contenido en nitrógeno del alimento en cuestión por el factor 6,25. Se considera con dicho cálculo que todo el nitrógeno obtenido se encuentra en forma proteica y que la proteína contiene un 16 % de nitrógeno. Por consiguiente, la proteína bruta es la suma de la proteína verdadera más la fracción nitrogenada no proteica (MAYNARD y LOOSLI, 1962).

Los compuestos nitrogenados ingeridos, tanto los proteicos como los no proteicos, son degradados en el rumen con la formación de ácidos grasos volátiles y compuestos nitrogenados más elementales, principalmente NH_3 , que a su vez son utilizados por los microorganismos para sintetizar sus propios compuestos nitrogenados celulares. ZUNTZ (1891), citado por McDONALD (1954), sugirió por primera vez la síntesis de proteína microbiana a partir del NNP del rumen para explicar el mecanismo de utilización de los forrajes por los animales rumiantes. Esta hipótesis fue cada vez más admitida hasta que finalmente fue confirmada de forma concluyente en las clásicas experiencias de LOOSLI (1949) y VIRTANEN (1966) que consiguieron mantener ganado vacuno con dietas que contenían NNP como única fuente de nitrógeno.

El beneficio económico que este hecho puede representar, ha dado un gran auge al estudio de la síntesis de proteína microbiana a partir del NNP; la degradación de la proteína de la dieta no ha sido estudiada con tanto detalle, pero en la actualidad existe la certeza sobre la síntesis del nitrógeno microbiano en el rumen a partir de los compuestos nitrogenados proteicos de la dieta.

HUME y col. (1970) demostraron que en ovejas mantenidas con una dieta exenta de proteína, el incremento desde 2 hasta 9 gramos diarios en el nitrógeno ingerido, aumenta la cantidad de proteína en el rumen de 32,5 a 50,0 grs. diarios. La distinción entre nitrógeno microbiano y nitrógeno alimentario constituye la principal dificultad para el cálculo de la cantidad de nitrógeno alimentario utilizado por los microorganismos para formar sus propias células.

Para diferenciar el nitrógeno alimentario el microbiano, se han utilizado varios métodos:

A) La síntesis de proteína microbiana ha sido estudiada incubando el contenido ruminal «in vitro». Siguiendo este método, PEARSON y SMITH (1943) determinaron que la síntesis microbiana equivalía a unos 8 grs. de nitrógeno por cada 100 grs. de contenido ruminal cuando éste contenía un 0,3 % de almidón. HOGAN y WESTON (1967) llegaron a la conclusión de que la cantidad de proteína microbiana sintetizada equivale a 15 grs. por cada 100 grs. de materia orgánica del rumen.

B) Por medio de la centrifugación fraccionada del contenido ruminal, BERGEN y col. (1968) y McNAUGHT y col. (1950 y 1954) obtuvieron aproximadamente 1,3 grs. de bacterias por litro. Siguiendo el mismo método, VAZ PORTUGAL (1963) llegó a la conclusión de que aproximadamente el 48 % del nitrógeno total del contenido del rumen era nitrógeno bacteriano.

C) Frecuentemente se ha utilizado la cantidad de ácido aminopimélico en el contenido del aparato digestivo como un índice de la proteína microbiana ya que este aminoácido no se encuentra en las plantas superiores y sólo se han detectado trazas de él en los protozoos. Sin embargo, tiene el inconveniente de que se encuentra en distintas concentraciones en las diferentes especies bacterianas del rumen y no aparece en algunas, (WORK y DEVEY, 1953; SINGH, 1953) por lo que cualquier cambio en la flora microbiana puede introducir un error considerable en los cálculos de la cantidad de proteína microbiana basados en este método. MASON y WHITE

(1971) demostraron que el ácido diaminopimélico de la pared celular de las bacterias ruminales no es degradado en el intestino delgado, pero sí lo es en el ciego y colon. Sin embargo, HURTON y col. (1971) demostraron que la concentración de ácido diaminopimélico y la relación entre este ácido y el nitrógeno total de las bacterias ruminales de ovejas alimentadas en un plano nutritivo constante, no sufrían variaciones apreciables durante un período de tres meses.

WELLER y col. (1958) basándose en los análisis de la cantidad de nitrógeno total, ácido diaminopimélico, lignina y vitamina B₁₂ en distintas fracciones del contenido de la panza de óvidos, estimaron que el 63-82 % del nitrógeno total se encontraba en forma de nitrógeno microbiano, el 5-10 % era nitrógeno soluble y el 11-27 % nitrógeno alimentario.

D) La conversión de nitrógeno alimentario en nitrógeno microbiano ha sido estudiada haciendo uso de la relación nitrógeno/lignina. Con este método, GRAY y col. (1953) calcularon que aproximadamente el 50 % del nitrógeno total en el rumen era de origen microbiano.

E) Las diferencias en composición química entre la dieta y los microorganismos se han utilizado para calcular la síntesis microbiana. Por ejemplo, ELY y col. (1967) determinaron que la cantidad de proteína microbiana en el rumen representaba el 28 % de la proteína total con una dieta rica en celulosa y el 33,8 % con una dieta rica en almidón. La proteína de la dieta fue en ambos casos zeína. Para sus cálculos se basaron en la distinta concentración de lisina existente en la dieta y en el cuajar.

MCDONALD (1954) y MCDONALD y HALL (1957) estimaron que la cantidad de proteína alimentaria utilizada por los microorganismos de la panza para sintetizar su propia proteína era aproximadamente el 40 ó el 90 % respectivamente cuando la proteína alimentaria era zeína o caseína. Los animales fueron mantenidos con una dieta semi purificada en la que la proteína aportaba el 94 % del nitrógeno total en el caso de la zeína y el 90 % en el caso de la caseína.

F) La síntesis microbiana se puede estudiar por medio de isótopos radiactivos. Así, PILGRIM y col. (1970) introdujeron SO₄ (¹⁵NH₄)₂ en el rumen de ovejas y encontraron que el nitrógeno marcado incorporado en las células microbianas equivalía al 62 ó al 78 % del nitrógeno introducido, al ser éste incorporado sobre raciones de alto o bajo contenido nitrogenado respectivamente.

La incorporación del ³⁵S en las células microbianas ha sido igualmente estudiada (WALKER y NADEH, 1968). Por este método, CONRAD y col. (1967) calcularon que la cantidad de metionina sintetizada en el rumen de vacas mantenidas a base de alfalfa era 31.55 mgs. diarios por kilogramo de peso vivo.

G) Puesto que una proporción considerable del nitrógeno microbiano está incluido en los ácidos nucleicos y éstos se encuentran en muy pequeñas cantidades en las plantas, dichos ácidos pueden ser utilizados como un índice de la síntesis microbiana. ELLIS y PFANDER (1965) estimaron que el nitrógeno de los polinucleótidos representaba el 13,8-18,4 % del nitrógeno microbiano y el 6,8-11,9 % del nitrógeno total del quimo. De este modo calcularon que el nitrógeno microbiano representaba el 41,1-51,6 % del nitrógeno total cuando las ovejas eran alimentadas con urea y aminoácidos.

GAUSSERES y FAUCONNEAU (1965) y TEMPLER-KUCHARSKY y GAUSSERES (1965), determinando la cantidad de adenina más guanina en bóvidos, calcularon que el nitrógeno proteico microbiano en el contenido duodenal representa aproximadamente el 50-70 % del nitrógeno total.

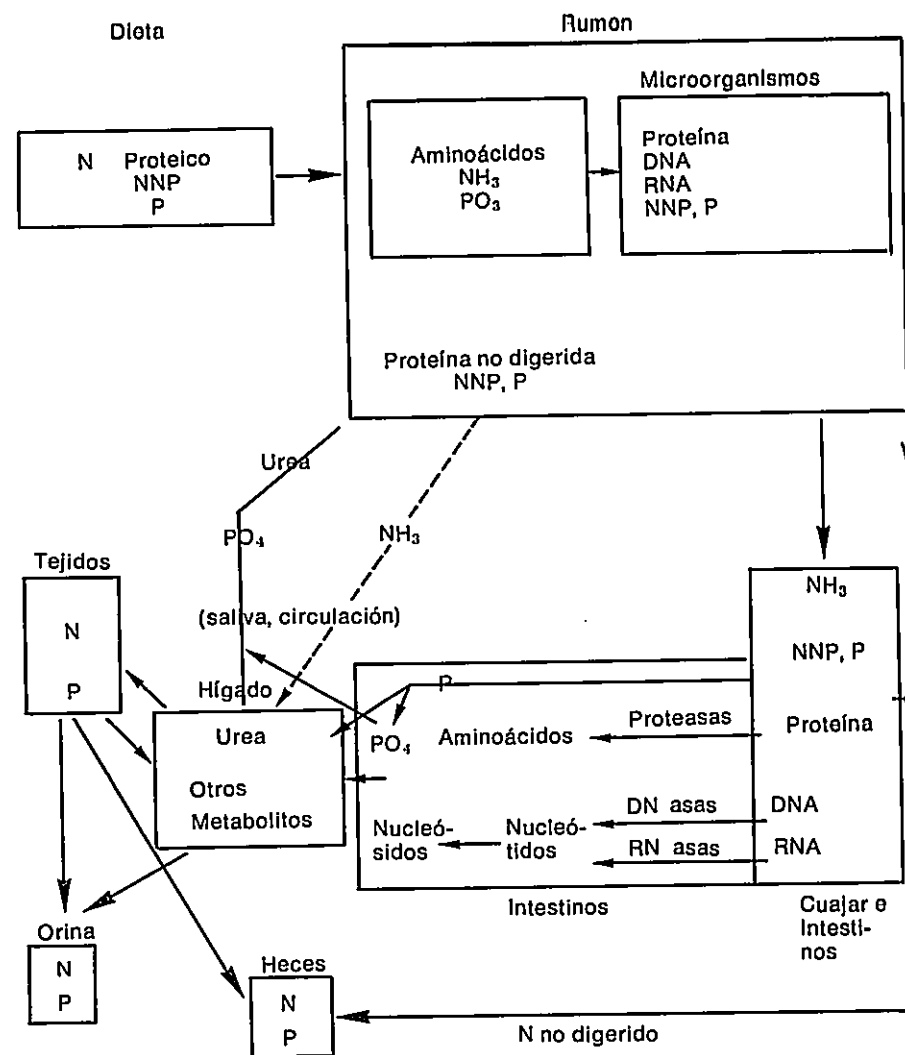
Analizando el nitrógeno nucleínico (N-nucleínico) en el contenido del rumen y del duodeno de bóvidos, SMITH y McALLAN (1970 y 1971) estimaron que el nitrógeno microbiano en el rumen representa el 50-80 % del nitrógeno total no amoniacal en los terneros y el 40-50 % en las vacas. en el contenido duodenal de los terneros la proporción es del 40-55 %.

Por todo lo dicho, puede apreciarse que, según los distintos autores, el N microbiano del contenido ruminal representa entre el 41 y el 82 % del N total. El interés de los investigadores se ha centrado tradicionalmente en el N proteico y sólo recientemente se ha comenzado a estudiar el NNP microbiano.

La proporción del N total de los microorganismos que pertenece a los ácidos nucleicos es aproximadamente el 20 % (ELLIS y PFANDER, 1965; SMITH, 1969; WASLIEN y col., 1970).

Es necesario, además, tener en cuenta que los microorganismos contienen un 2.6 % de su materia seca en forma de fósforo y la mayor parte de él se encuentra en los ácidos nucleicos

(HUNGATE, 1966; BARNARD, 1969). El último autor citado ha propuesto el siguiente ciclo del N y P en los rumiantes señalando la importancia de los ácidos nucleicos.



I.II. Ácidos nucleicos alimentarios.

Según lo indicado, entre los compuestos nitrogenados no proteicos de los alimentos no encuentran los ácidos nucleicos y sus derivados.

FERGUSON y TERRY (1953) identificaron adenina, guanina, xantina e hipoxantina entre la fracción nitrogenada no proteica de la hierba. En las hojas de alfalfa se encuentra guanina y adenina en estado libre y el ácido úrico alcanza una proporción de 250 mgs./Kg. en hojas y semillas (BONNER, 1950). WILDMAN y col. (1949) calcularon que la purina representa como mínimo el 1 % de las proteínas citoplasmáticas de las hojas de espinacas.

Según SMITH y McALLAN (1970) los ácidos nucleicos alimentarios pueden representar hasta el 20 % del DNA y el 50 % del RNA en el contenido ruminal, pero, como han demostrado por medio de experimentos «in vitro», estos ácidos se degradan en el rumen en el plazo de una hora, por lo que su contribución a la cantidad de ácidos nucleicos del contenido del aparato digestivo debe ser insignificante.

1.III. Degradación y síntesis de los ácidos nucleicos.

Diversos trabajos señalan que los ácidos nucleicos (A. N.) exógenos son degradados en el rumen y que los microorganismos sintetizan sus A. N. celulares. BELASCO (1954) observó que la microflora ruminal «in vitro» utiliza eficientemente la creatina, creatinina, ácido úrico y alantofina como fuentes nitrogenadas.

JUNTSUUT y col. (1958) estudiaron la degradación de las bases púricas por suspensiones lavadas de bacterias del rumen de bóvidos en condiciones anaeróbicas y comprobaron que la xantina, ácido úrico y guanina sufren una degradación total aunque lenta, en cambio la hipoxantina se degrada sólo parcialmente y la adenina no se degrada. Los productos finales obtenidos son CO_2 , NH_3 y ácido acético.

AYERS (1958) demostró que la bacteria *Ruminococcus flavefaciens* requiere para su crecimiento adenina y guanina, entre otros factores. COLEMAN (1968) observó que el protozoo *Entodinium caudatum* incorpora en su citoplasma y sus A. N. celulares adenina, guanina y uracilo marcados con ^{14}C así como bases púricas y pirimidínicas, ribosa y fósforo pertenecientes a los A. N. bacterianos. McALLAN y SMITH (1973a) han encontrado que en suspensiones del líquido ruminal exento de células, hay enzimas capaces de transformar el DNA y el RNA en oligo y mononucleótidos, nucleósidos, bases púricas y pirimidínicas. En sus experimentos incubaron RNA y DNA con el contenido ruminal exento de células. Después de cuatro horas de incubación los principales productos resultantes de la degradación del DNA son oligo y mononucleótidos. El RNA se degrada más rápidamente que el DNA puesto que a las cuatro horas de incubación, los únicos derivados del RNA detectados en el líquido ruminal fueron xantina, hipoxantina y uracilo. Los mismos autores (McALLAN y SMITH, 1973b) utilizando igualmente el contenido ruminal exento de células, no pudieron demostrar ninguna degradación, o muy escasa, de los derivados de los ácidos nucleicos.

En los rumiantes, los microorganismos de la panza aportan, la mayor parte de la proteína que el animal digiere en el cuajar e intestino (BAKER y HARRIS, 1947; POUNDEN y col., 1950; MASSON, 1950; CHALMERS y SYNGE, 1954; PHILLIPSON, 1963; HUTTON y col. 1971).

Según MASON (1969) el 57-81 % del N fecal no alimentario está constituido por células bacterianas procedentes del rumen.

La cantidad de N nucleínico en el contenido ruminal representa aproximadamente el 10 % del N total (ELLIS y PFANDER, 1965; SMITH y McALLAN, 1970).

Parece ser que la concentración de A. N. no varía apreciablemente entre el rumen y el intestino delgado (ELLIS y BLEICHNER, 1969a; SMITH y McALLAN, 1971); sin embargo OFFER y col. (1971) calcularon que el N nucleínico en el contenido duodenal de ovejas equivale al 42 % del N total.

No se han realizado muchos estudios sobre la digestibilidad aparente de los A. N., pero parece ser que es muy alta. ELLIS y BLEICHNER (1969a) estudiaron la digestibilidad de la adenina en óvidos, utilizando óxido crómico como marcador; encontraron que la relación entre la adenina (1 $\mu\text{mol.}$) y el óxido crómico (en miligramos) era de 0,07 en la dieta, 0,66 en el rumen y el retículo, 0,74 en el cuajar, 0,55 en el segmento proximal del intestino delgado, 0,17 en el segmento caudal del intestino delgado, 0,37 en el ciego y 0,30 en las heces. Por consiguiente, el coeficiente de digestibilidad desde el segmento proximal hasta el distal es del 69,1 %.

RAZZAQUE y TOPPS (1972) demostraron que la cantidad de A. N. ingerida no influye en la cantidad presente en el cuajar y las heces, que es relativamente constante, por lo cual concluyen estos autores que los A. N. alimentarios son degradados en el rumen-retículo y los A. N. sintetizados en dicha parte del aparato digestivo son altamente digestibles.

La degradación de los A. N. también ha sido estudiada en el aparato digestivo de animales monogástricos. (WILSON, 1962; WILSON y WILSON, 1958; ANDERSON y col., 1970; KOTANI y col.,

1967 y 1970). De los estudios realizados se puede concluir que los A. N. y sus derivados son absorbidos en el intestino delgado.

Así pues, parece evidente que se produce una alta digestibilidad aparente de los A. N., tanto en rumiantes como en monogástricos; la determinación de la digestibilidad real es muy complicada y los datos existentes son contradictorios.

Es sabido que la excreción diaria de bases púricas en los rumiantes representa de 3 a 6 veces la cantidad excretada por los monogástricos de igual peso vivo (BLAXTER, 1961). BLAXTER y MARTIN (1962), estudiando la utilización de la proteína por ovejas, observaron que introduciendo caseína en el rumen, la excreción de alantofina y de ácido púrico era ligeramente mayor que cuando la misma proteína era introducida en el cuajar. Según dichos autores, este hecho es debido a que la introducción de la caseína en el rumen estimula el crecimiento bacteriano con la consiguiente síntesis de A. N., lo que a su vez conduce a un aumento en la absorción y excreción de purinas que carecen de valor nutritivo para el animal.

TOPPS y ELLIOT (1965) encontraron una estrecha correlación entre la concentración de A. N. en el rumen y la cantidad de ácido úrico y alantofina excretada por los óvidos.

ELLIS y PFANDER (1965) son también de la opinión de que el N sintetizado en el rumen en forma de A. N. microbianos, y que consiguientemente es digerido y absorbido, no es utilizable por el rumiante, lo cual constituye el motivo por el que estos animales excretan una mayor cantidad de purinas que los monogástricos.

SMITH (1969) considera asimismo que los A. N. de los microorganismos ruminales representan una pérdida para el hospedador, desde el punto de vista alimenticio.

SMITH, McALLAN y HILL (1969) realizaron un balance nitrogenado en ratas alimentadas con tres tipos de dietas: una basal, otra basal más un 1 % de RNA y una tercera constituida por la dieta basal a la que se añadió un 1,56 % de ácido glutámico. Pudieron observar que la excreción de alantofina fue significativamente mayor con la dieta que incluía RNA. Aproximadamente el 25 % del N nucleínico de la dieta fue detectado en la orina en forma de alantofina, el resto estaba constituido principalmente por N ureico.

ELLIS y BLEICHNER (1969a) calcularon que la cantidad de purinas urinarias (alantofina, ácido úrico, xantina e hipoxantina) representa del 14 al 47 % de las purinas absorbidas de lo que se deduce que aproximadamente el 70 % de las purinas absorbidas son utilizadas por el animal para otros fines. Para sus experimentos utilizaron ovejas que recibieron una dieta semipurificada de bajo contenido en purinas y que fueron sacrificadas a los 21 días de iniciada la prueba.

En una serie de experimentos realizados con corderos (CONDON y HATFIELD, 1970; CONDON, HALL y HATFIELD 1970 y CONDON, 1971) se introdujeron por perfusión 3 grs. de N ribonucleico diarios en el cuajar y se analizaron las bases púricas excretadas en la orina. Los primeros resultados obtenidos indicaban que la proporción de bases excretadas equivalía al 110 % de las absorbidas cuando la dieta era de bajo contenido nitrogenado (8 grs. diarios) y al 29 % cuando la dieta contenía 19 grs. de N diario. De acuerdo con estas cifras, dedujeron que el N nucleínico representa una pérdida para el rumiante. En cambio, cuando introdujeron RNA, adenina y uracilo marcados con ^{14}C comprobaron que el C radiactivo había sido incorporado en los tejidos del animal, por lo cual llegaron a la conclusión de que los A. N. sintetizados por los microorganismos ruminales tienen un valor nutritivo, probablemente las bases nitrogenadas derivadas de los A. N. ruminales son incorporadas en el metabolismo tisular del hospedador que consiguientemente no tendría necesidad de sintetizarlas «de novo».

BARNARD (1969) en una serie de experimentos realizados con conejos, gatos, monos y ratones introdujo RNA marcado con ^{14}C en el aparato digestivo de los animales por medio de una sonda esofágica, o bien, incorporado a la dieta o al agua de bebida. Observó que entre el 19,3 y el 40,0 % del ^{14}C ingerido se excretaba rápidamente por la orina y las heces. Diez días después de la administración del RNA marcado, los animales fueron sacrificados y se analizaron sus hígados. Barnard encontró que el ^{14}C presente en el hígado representaba del 0,7 al 1,7 % de la dosis ingerida. Según dicho autor, este porcentaje indica que el RNA suministrado es absorbido y una parte significativa de él se incorpora en el metabolismo celular.

II. IV. Importancia de los ácidos nucleicos en la alimentación animal.

La proteína de los microorganismos de la panza es de alto valor biológico y su coeficiente de digestibilidad es elevado cuando no usa para la alimentación de animales monogástricos (McNAUGHT y col. 1954; PENSEN y DEUCHLEN, 1966; WELLEN, 1957; BERGEN y col., 1967, 1968).

La escasez mundial de proteína animal ha despertado el interés en el cultivo de microorganismos en hidrocarburos y desperdicios industriales y su uso como fuente proteica.

Como hemos visto, el contenido en A. N. de los microorganismos es alto, aproximadamente el 20 % del N total; este hecho ha sido considerado como un inconveniente para su uso en la alimentación ya que el producto final del catabolismo de las purinas, el ácido úrico, es muy poco soluble a pH fisiológicos por lo cual existe el peligro de que cuando la dieta contiene una excesiva cantidad de purinas, las sales del ácido úrico se depositan en los tubos renales y otros tejidos, por ejemplo articulaciones, originando así la gota.

WASLIEN y col. (1970) observaron que en el hombre, la excreción de ácido úrico por la orina cuando la dieta diaria contiene 50 grs. de proteína en forma de algas y levaduras es de 2 a 4 veces superior que cuando la dieta no contiene purinas.

En cambio, GROOT y col. (1970a, 1970b) alimentaron ratas durante un año con levaduras cultivadas en hidrocarburos con resultados satisfactorios. DAM y col. (1965) no encontraron ningún efecto perjudicial en hombres alimentados con algas durante un período de 20 días, sin embargo, BRAUDE y col. (1943), durante una prueba de digestibilidad de 16 semanas de duración realizada con cerdos, utilizaron grandes dosis de levaduras en la dieta y los animales fueron afectados de raquitismo. Los investigadores observaron que estos síntomas podían ser evitados por completo añadiendo a la dieta aceite de hígado de bacalao y en parte, añadiendo calcio.

La concentración de A. N. en los tejidos animales ha sido también estudiada con relación al depósito de aminoácidos y proteínas y al metabolismo proteico (DARNELL, 1968; MASTERS, 1963; HRYNIEWICKI, 1965; MUNRO y col., 1965; MONRO y MUKERJI, 1958 y 1962; MUNRO y CLARK, 1959; UMÄA, 1965; YOUNG y ALEXIS, 1968; SUMMERS y FISHER, (1962), con relación al metabolismo de fósforo (BERGNER, 1966) y a la reproducción animal (BRATANOV y col., 1968).

Como resumen del problema planteado se puede decir que, en los rumiantes, los A. N. forman aproximadamente el 10 % del N que entra en el cuajar, y no se sabe con certeza si el N nucleínico representa una pérdida de N, o incluso un peligro para el animal o si por el contrario, es incorporado y utilizado por éste.

El trabajo presentado en esta Tesis es un estudio sobre los ácidos nucleicos presentes en el contenido del tracto digestivo de los óvidos.

Se estudió primeramente la concentración de los ácidos nucleicos en diversas partes del aparato digestivo y su distribución en el rumen.

Se determinó luego la cantidad de dichos ácidos que pasan diariamente a lo largo del aparato digestivo y su digestibilidad aparente. Por último, se estudió la excreción de alantoina por la orina.

CAPITULO II MATERIAL Y METODOS

II. I. Animales experimentales.

Para llevar a cabo los experimentos descritos en este trabajo se utilizaron los siguientes animales:

A) 12 ovinos adultos de edades comprendidas entre los 2 y los 5 años y de 40 a 60 Kgs. de peso vivo; 9 de raza Clun Forest y 3 de raza Welsh Mountain.

Las muestras del contenido del aparato digestivo de estos animales se obtuvieron a través de cánulas colocadas a este efecto de la forma descrita en II. III. En la Tabla I se indican las características individuales de estos animales.

B) Nueve corderos Clun Forest extraídos de la madre por histioectomía y pertenecientes a dos grupos distintos.

Grupo a.—4 corderos de 18 a 20 kilos de peso vivo y de 70-77 días de edad, 2 de ellos, aunque poseían una flora ruminal normal, fueron criados en jaulas especiales, exentos de patógenos específicos (corderos S. P. F.). Estos corderos fueron alimentados con una dieta que llamaremos dieta «A» y se describirá en el apartado siguiente.

TABLA I
Características de los óvidos adultos utilizados

Animal N.º	Raza	Sexo	Peso (Kg)	Edad*1 (años)	Dieta*2	Cánulas colocadas*3
1	Clun Forest	H	52.60	5	h-m → a	R, Cu, D, I
2	»	H	50.56	5	»	R, Cu, D, I
3	»	H	54.62	3	»	R, Cu, D, Ci
4*4	»	M	50.55	5	a → h-m	R, L, D
5*4	»	M	49.53	5	»	R, L, D
6	»	M	40.45	3	h-m	R, D, Ci.
7	»	M	43.45	3	»	R, 2D (reentrante)
8	»	M	47.53	3	»	R, 4D (doble reentrante)
9	»	M	48.52	3	»	R, 4D (doble reentrante)
10	Welsh Mountain	M	30.31	3	»	R
11	»	M	20.35	3	»	R
12	»	M	18.22	3	»	R

*1. Edad del animal al final del trabajo experimental.

*2. h-m = dieta de heno troceado y maíz en copos; a = dieta de alfalfa granulada. Una flecha horizontal significa un cambio de dieta en el sentido indicado.

*3. R = cánula colocada en el rumen
L = cánula colocada en el librillo
Cu = cánula colocada en el cuajar
D = cánula colocada en el duodeno
I = cánula colocada en el íleo
Ci = cánula colocada en el ciego

*4. Los animales núms. 4 y 5 pertenecían al Prof. R. J. Moir, quien realizó las correspondientes canulaciones.

Grupo b.—5 corderos mantenidos con una dieta distinta que llamaremos dieta «B». Uno de ellos fue criado convencionalmente, los cuatro restantes eran gnotobióticos y fueron criados en condiciones asépticas dentro de jaulas aislantes individuales.

C) Así mismo, se utilizaron 15 conejos adultos de ambos sexos con el fin de obtener algunos valores comparativos con animales monogástricos.

Las ovejas y los carneros se mantuvieron siempre en boxes individuales o en jaulas metabólicas, cuando así lo exigía la naturaleza del experimento. Los corderos y conejos se mantuvieron igualmente en jaulas individuales.

II.II. Régimenes alimenticios.

Para el ganado ovino se utilizaron dos dietas distintas:

- A) Heno trocado y maíz en copos (700 y 200 grs. diarios respectivamente).
- B) Alfalfa deshidratada granulada (800 grs. diarios).

La ración diaria se suministró generalmente en dos porciones iguales, administradas a las 8,30 de la mañana y a las 5,00 de la tarde. Se acostumbró a los animales a ingerir su ración en menos de una hora.

En algunos experimentos se suministró la ración diaria en 12 porciones iguales, una cada dos horas por medio de un alimentador automático.

Algunos animales fueron cambiados de dieta, tal como se indica en la Tabla I; el cambio se efectuó siempre gradualmente, no realizándose ningún experimento con el animal en cuestión hasta que no hubiese transcurrido un período de una semana como mínimo.

En el caso de los corderos, la alimentación fue siempre «ad libitum».

La composición de la dieta «A», fue la siguiente:

Paja de cebada	30,00 %
Trigo	23,25 %
Cebada	22,25 %
Harina de cacahuet	12,50 %
Melazas	10,00 %
Urea	1,00 %
Sebo	1,00 %
Corrector vitamínico-mineral	c.s.

Se estimó que los corderos ingerían diariamente unos 800 grs. de esta dieta.

La dieta «B» se componía de los siguientes elementos:

Cebada	50,00 %
Suplemento proteico	30,00 %
Paja de cebada	10,00 %
Heno	5,00 %
Melazas	5,00 %
Corrector vitamínico-mineral	c. s.

Los conejos fueron alimentados «ad libitum» con una dieta comercial.

II.III. Operaciones quirúrgicas.

Tal como se indica en la Tabla I se anulaban diversas partes del aparato digestivo de las ovejas y carneros con objeto de obtener muestras del contenido del aparato digestivo de los animales en condiciones fisiológicas prácticamente normales.

Los animales eran anestesiados con Nembutal, manteniéndose la anestesia con Fluothane en circuito cerrado si la operación había de durar más de una hora.

Como medida rutinaria, se administraba durante la operación una solución salina fisiológica gota a gota en la yugular, así como antitoxina tetánica y antibióticos (streptopen) como tratamiento post operatorio.

Para el rumen se utilizaron cánulas rígidas, de ebonita, de 17 mm. de diámetro interno y con una base circular de 80 mm. de diámetro. Se colocaron estas cánulas en el saco dorsal del rumen siguiendo la técnica de PHILLIPSON e INNES (1939), con la modificación de que la cánula no se exteriorizó a través de la incisión operatoria sino cranealmente a ésta.

La misma técnica se utilizó para colocar las cánulas en las demás partes del aparato digestivo.

Las cánulas del cuajar se colocaron en la región pilórica de éste. Las cánulas fueron confeccionadas con jeringuillas de plástico de 8 mm. de diámetro interno, a las que se acopló un reborde del mismo material de unos 45 mm. de longitud y 20 de anchura.

Las cánulas colocadas en el duodeno, de cloruro de polivinilo y ligeramente curvas, fueron semejantes a las descritas por ASH (1961) (7 mm. de diámetro interno y 53 mm. de base). Las cánulas duodenales de los animales números 1, 2, 3, 4, 5 y 6 se colocaron caudalmente a la ampolla de Vater, a una distancia de unos 10 cms. en las 5 primeras y 40 cms. en la última.

Las cánulas del íleo se colocaron a unos 10 cms. de la válvula íleo-cecal. Sus dimensiones eran de unos 9 mm. de diámetro interno con una base de unos 30 mm. de longitud; algunas eran de «perspex», otras se hicieron con jeringuillas de plástico.

Las cánulas colocadas en el ciego (a unos 20 cms. de la válvula íleo-cecal) se confeccionaron igualmente con jeringuillas de plástico; su diámetro interno era de 12 mm. y su base aproximadamente de 55×30 mm.

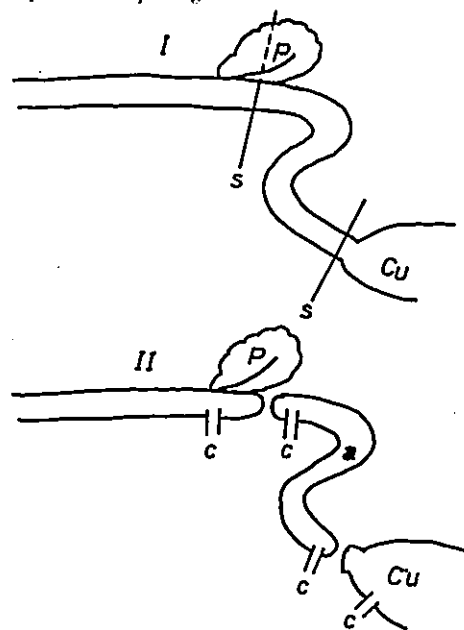
En el carnero número 7 se colocó una cánula duodenal reentrante, con la formación de un asa de duodeno aislada, tal como se representa en la Figura I.

El duodeno fue seccionado transversalmente en dos puntos posteriores a la ampolla de Vater, situados a unos 3 y 20 cms. de ella, respectivamente. Los cuatro extremos resultantes se invirtieron y saturaron con la consecuente formación de un segmento aislado que se exteriorizó a través de la pared abdominal por medio de una cánula.

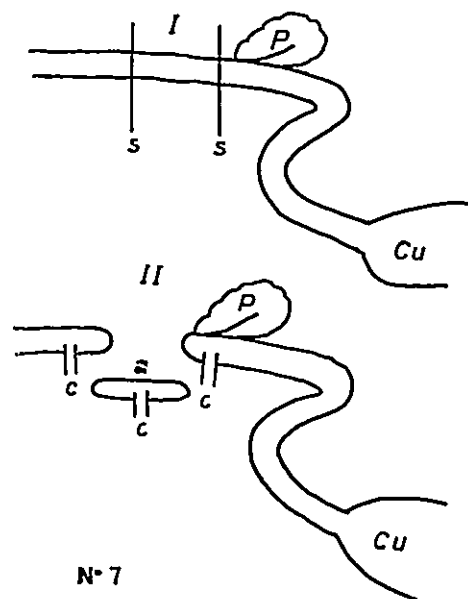
La continuidad del duodeno se reestableció a través de la pared abdominal, mediante sendas cánulas curvas insertas en los extremos proximal y distal, ya sutu-

FIGURA I

Esquema de las Operaciones quirúrgicas realizadas en los animales números 7, 8 y 9.



Nº 8 y 9



Nº 7

Cu = Cuajar
P = Páncreas
s = Línea de sección y sutura del intestino
c = Cánula
a = Asa intestinal aislada

rados, y conectadas exteriormente mediante un tubo flexible (HOGAN y PHILLIPSON, 1960).

En los carneros números 8 y 9 se colocaron cánulas duodenales reentrantes dobles de la forma que se muestra en la figura I.

Se realizaron dos secciones transversales en el duodeno: una inmediatamente detrás del píloro y otra a unos 4 cms. por delante de la ampolla de Vater. Después de suturar los cuatro extremos, como en el caso anterior, se insertaron cuatro cánulas curvas. La primera en la región pilórica del cuajar y las tres restantes en la proximidad de los otros tres extremos suturados.

Se exteriorizaron las cuatro cánulas a través de la pared abdominal, conectándose la primera con la segunda y la tercera con la cuarta; de esta forma quedó reestablecida la continuidad del intestino, pudiéndose además aislar el segmento intestinal comprendido entre la segunda y la tercera cánula, simplemente conectando la primera con la cuarta.

II.IV. Recogida de muestras.

A) En los óvidos adultos.—Las muestras del contenido ruminal se obtuvieron mediante un tubo de plástico duro de 6 mm. de diámetro interno y 120 cms. de longitud. Introduciendo este tubo en el rumen a través de la cánula, se recogían por aspiración unos 15 ml. y a continuación se volvía a repetir la operación, procurando dirigir el tubo hacia otro punto de la panza, hasta obtener el volumen total deseado.

Este fue el método corrientemente empleado. Sin embargo, en algunos experimentos, se obtuvieron muestras ruminales mediante un tubo rígido de vidrio de 25 mm. de diámetro interno, siguiendo la misma técnica y en algunos casos, se tomaron las muestras a partir del contenido total del rumen, vaciado previamente a través de la cánula.

Las muestras del contenido del librillo, cuajar, duodeno, íleo y ciego, se obtuvieron retirando el tapón de la cánula respectiva y colocando un recipiente adecuado a la boca de ésta de forma que, bajo la acción de la gravedad y de los movimientos del aparato digestivo, el contenido de este último cayera dentro del recipiente.

El contenido duodenal de los animales provistos de cánulas reentrantes, se obtuvo simplemente desconectando dichas cánulas y recogiendo la digesta procedente de la cánula proximal.

Para tomar muestras de las deyecciones, se mantuvieron los animales en jaulas metabólicas individuales, que permitían la separación de heces y orina.

B) En los corderos.—Las muestras del contenido ruminal de los corderos del grupo «a» se obtuvieron introduciendo en el rumen un tubo flexible a través del esófago.

Todas las muestras del contenido del aparato digestivo de los corderos del grupo «b» se tomaron inmediatamente después de ser sacrificados.

C) En los conejos.—El contenido del tubo digestivo de los conejos se recogió siempre «post mortem». Los animales eran sacrificados mediante una sobredosis de Nembutal o por desnucamiento. Inmediatamente se abría el abdomen y se ligaba el aparato digestivo a nivel del píloro y de la válvula ileo-cecal. A continuación se recogían por separado los contenidos del estómago, intestino delgado y ciego.

D) Conservación de las muestras.—Una vez recogidas, las muestras se conservaban a 4°C en recipientes cerrados hasta el momento de analizarlas. Si no podían ser analizadas el mismo día, se mantenían a -12°C y se descongelaban a temperatura ambiente antes de verificar su análisis.

II.V. Métodos analíticos.

A) *Materia seca*.—La materia seca se determinó por desecación a 105°C, hasta peso constante. Se considera que la pérdida de peso sufrida representa el contenido en humedad de la muestra.

B) *Nitrógeno total*.—El contenido nitrógeno total de las muestras se determinó por el método de Kjerldahl, de la forma descrita por CONWAY (1957). Después de digerir la muestra a analizar con SO_4H_2 concentrado, usando tabletas de cobre y selenio como catalizadores*, se neutraliza NaOH a saturación y se destila en un «Markham Still» el NH_3 producido se recoge en un buffer bórico y se titula con ClH , hasta alcanzar el pH original.

C) *Nitrógeno amoniacal*.—El nitrógeno amoniacal se determinó siguiendo la técnica de microdifusión descrita por CONWAY (1957), dejando un margen de tres horas para la difusión del amoníaco.

D) *Polietilenglicol*.—El PEG se determinó siguiendo el método de HYDEN (1955), según la modificación descrita por MANGAN y WRIGHT (1968).

Para determinar la concentración de PEG en las muestras de heces, se añadía un volumen conocido de agua a una cantidad dada de heces previamente desmenuzadas, dejándose reposar a 4°C durante un mínimo de 48 horas, con el fin de que se disolviera el PEG presente en las heces. A continuación se centrifugaba la suspensión y se determinaba el PEG en el sobrenadante obtenido.

E) *Ácidos nucleicos*.—La determinación de los ácidos nucleicos se realizó mediante una adaptación de los métodos de SCHMIDT y THANNHAUSER (1945) y de SCHNEIDER (1945), descrita por Mc ALLAN y SMITH (1969).

Después de haber extraído las sustancias lipídicas y solubles en ácido, la muestra a analizar se deseca al vacío a temperatura ambiente y se pulveriza, obteniendo así lo que llamaremos «residuo seco».

* BDH Chemical Ltd. Poole, Dorset, Inglaterra.

El contenido en RNA se calcula por la densidad óptica a 260 m μ de los mononucleótidos. Estos se obtienen mediante la hidrólisis alcalina del residuo seco y consiguiente purificación del hidrolizado pasándolo a través de una resina Dowex.

El DNA se determina por el contenido en desoxirribosa del hidrolizado ácido obtenido a partir del residuo seco (BURTON, 1956).

Como patrones se utilizaron RNA de levadura y DNA de timo*.

F) *Alantoína*.—La concentración de alantoína en la orina se determinó mediante la reacción de Rimini-Schryver, de acuerdo con el método propuesto por YOUNG y CONWAY (1942).

Este método se basa en la conversión de la alantoína en ácido alantóico por calentamiento en NaOH diluido. A continuación se hidroliza el ácido alantóico con ClH diluido produciendo urea y ácido glioxílico; se añade después clorhidrato de fenilhidracina con lo cual se forma la fenilhidrazona; ésta, al oxidarse finalmente por la adición de ferricianuro potásico, produce una reacción coloreada cuya intensidad se mide en el espectrofotómetro a 520 m μ .

Como standard se usó una solución de alantoína* preparada en el mismo día en que se analizaban las muestras.

G) *Ácido úrico*.—Se determinó la concentración del ácido úrico en algunas muestras de orina mediante una modificación del método de FEICHTMEIR y WRENN (1955), basado en la formación de alantoína cuando el ácido úrico es hidrolizado por la uricasa. Se incubaron alícuotas de orina; a 37°C durante una hora, unas con uricasa y otras sin ella. A continuación se analizaron todas las muestras para hallar su respectiva concentración en alantoína y se consideró que la diferencia entre las alícuotas incubadas con uricasa y aquellas incubadas sin dicha enzima, era equivalente al ácido úrico presente en las muestras.

En todos los experimentos se comprobó el porcentaje de recuperación de ácido úrico* comercial añadido a las muestras.

H) *Análisis estadísticos*.—El tratamiento estadístico de los resultados se llevó a cabo siguiendo los métodos habituales, tal como han sido descritos por BROOKES y DICK (1967) y SNEDECOR y COCHRAN (1967).

A lo largo de este trabajo se han presentado los resultados mediante la media de los valores obtenidos experimentalmente y su desviación standar (\pm D. S.).

* BDH Chemicals Ltd., Poole, Dorset, Inglaterra.

CAPITULO III

ACIDOS NUCLEICOS PRESENTES EN EL CONTENIDO DEL APARATO DIGESTIVO

EXPERIMENTOS Y RESULTADOS

III.1 *Ovidos adultos.*

A) Porcentaje de recuperación de los ácidos nucleicos añadidos al contenido del tracto digestivo.

Para la determinación de los A. N. en el contenido del aparato digestivo se utilizó una modificación de los métodos tradicionales. Por ello, se comprobó cuidadosamente el posible error existente en la determinación.

Con este fin se añadieron entre 25 y 100 mg. de RNA o DNA por cada 100 ml. del contenido del rumen, del contenido del duodeno o del contenido del fíleo o bien por cada 100 grs. del correspondiente residuo seco obtenido en el primer paso de la determinación de los A. N.

Los resultados obtenidos se exponen en la Tabla II, en la que puede apreciarse que el porcentaje de recuperación de los A. N. añadidos osciló entre el 85 y 99 %.

De forma similar, se comprobó que la xilosa añadida bien al contenido del rumen, bien al residuo seco obtenido a partir de éste o directamente a las soluciones patrones de los ácidos nucleicos, no interfiere con la determinación de la desoxirribosa y por lo tanto del DNA, contrariamente a la información facilitada por OVEREND y col. (1950).

B) Análisis de la dieta.

En el curso del trabajo experimental, se utilizaron una partida de maíz y una partida de alfalfa, en tanto que fue necesario adquirir tres partidas de heno en otros tantos momentos en el transcurso del trabajo. Se analizaron muestras de heno procedentes de las tres partidas y así mismo, muestras de maíz y de alfalfa tomadas en la misma fecha.

Las muestras se molieron y se determinó su contenido en materia seca, N total y A. N.

Los resultados obtenidos (Tabla III) fueron similares en las tres muestras de cada ingrediente, con excepción de la primera de heno que dio concentraciones más bajas que las otras dos.

De acuerdo con esos resultados, se calculó la cantidad ingerida diariamente, tal como se representa en la tabla IV.

C) Análisis del contenido ruminal.

a) Fraccionamiento del contenido ruminal y análisis de cada fracción.

En un recipiente refrigerado se recogieron unos 300 ml. del contenido ruminal

TABLA II
Recuperación de los ácidos nucleicos añadidos al contenido del aparato digestivo

Muestra	Contenido del Rumen		Contenido del duodeno		Contenido del fíleo		Residuo seco del rumen		Residuo seco del duodeno		Residuo seco del fíleo	
	DNA	RNA	DNA	RNA	DNA	RNA	DNA	RNA	DNA	RNA	DNA	RNA
A. N. añadido												
N.º de determinaciones	10	8	11	10			6	6	6	4	5	5
Porcentaje de recuperación. (Media \pm S. D.)	87 \pm 3,5	88 \pm 2,7	86 \pm 85 \pm 2,0	3,4			98 \pm 2,4	99 \pm 3,0	99 \pm 2,5	98 \pm 1,7	98 \pm 3,2	98 \pm 3,2

TABLA III
Composición de los alimentos

Alimento	Partida	M. S. %	N. total	mg/ 100 gr. materia seca				N-A. N. (% del N total)	RNA/DNA
				N-DNA	N-RNA	N-A. N.			
Heno	1	88,0 \pm 0,2	930 \pm 5,0	14,6 \pm 1,1	25,0 \pm 0,6	39,6 \pm 0,1	4,2 \pm 0,2	4,2 \pm 0,2	1,56
Heno	2 y 3	90,1 \pm 0,1	1,900 \pm 10,5	34,6 \pm 1,9	42,0 \pm 2,3	76,7 \pm 2,0	4,0 \pm 1,2	4,0 \pm 1,2	1,13
Maíz	1, 2, 3	86,1 \pm 0,2	1,540 \pm 17,0	10,9 \pm 2,0	15,6 \pm 2,8	26,5 \pm 2,2	1,7 \pm 0,9	1,7 \pm 0,9	1,33
Alfalfa	1, 2, 3	90,8 \pm 0,1	2,370 \pm 10,0	21,9 \pm 3,0	41,3 \pm 2,1	66,2 \pm 1,8	2,6 \pm 0,6	2,6 \pm 0,6	1,88

TABLA IV
Ingestión diaria de los óvulos adultos

Dieta	Alimento	Cantidad ingerida (g)	M. S. (g)	N. Total (g)	N-AN (mg.)	N-A. N. porcentaje del N total	N-DNA (mg.)	N-RNA (mg.)
Heno y Maíz	Heno	700	630,5	11,9	483,7	4,0	218,4	265,2
	Maíz	200	172,2	2,6	45,7	1,7	18,8	26,9
	Total	900	802,7	14,6	529,4	3,6	237,2	292,1
Alfalfa	Alfalfa (total)	800	726,3	18,3	481,4	2,6	159,6	321,7

de la oveja núm. 2 mantenida con la dieta de heno y maíz. Una vez homogeneizados, se separaron, tal como se indica en el diagrama 1, en las fracciones siguientes:

- 1) R1: contenido ruminal tal como se obtuvo por aspiración a través de un tubo de 8 mm. de diámetro interno.
- 2) R2: filtrado de la fracción R1 a través de gasa doble.
- 3) R3: sobrenadante obtenido al centrifugar la fracción R2 a 755 g. durante 15 minutos.
- 4) R4: sobrenadante obtenido al centrifugar la fracción R3 a 48.200 g. durante 15 minutos.
- 5) P: para obtener esta fracción se filtró primeramente el contenido ruminal a través de gasa doble. El residuo obtenido se lavó repetidas veces con una solución salina fisiológica y se filtró en cada ocasión a través de gasa doble. Se recogieron todos los filtrados y se centrifugaron a 755 g. durante 15 minutos, el sobrenadante se reservó para obtener la fracción siguiente, el residuo constituye la fracción P.
- 6) B: el sobrenadante resultante al obtener la fracción anterior se centrifugó a 48.200 g. durante 15 minutos. El residuo constituye la fracción B.

Se analizó el contenido en materia seca, N total y A. N. de cada una de las seis fracciones. Los resultados se representan en la Tabla V.

A no ser que explícitamente se indique de otra forma, todos los análisis llevados a cabo con el contenido del rumen se realizaron sobre muestras obtenidas por aspiración a través de un tubo de 8 mm. de diámetro interno, tal como se indicó en el capítulo II.

b) Materia seca del contenido ruminal recogido por tres métodos distintos. Se recogieron durante varios días dos muestras del contenido del rumen de la oveja número 3 antes de administrar la ración de la mañana (heno y maíz).

Las dos muestras diarias se recogieron por aspiración con tubos de 8 y 25 mm. de diámetro interno respectivamente. También se tomaron muestras del contenido ruminal de los animales números 1, 2, 3, 6 y 7 vaciado en un recipiente a través de la cánula. Estos animales iban a ser sometidos a una operación quirúrgica y habían permanecido unas 24 horas en ayunas cuando se tomaron las muestras.

Los resultados obtenidos se representan en la Tabla VI.

c) Variaciones diurnas en el contenido del rumen y del duodeno.

DIAGRAMA I

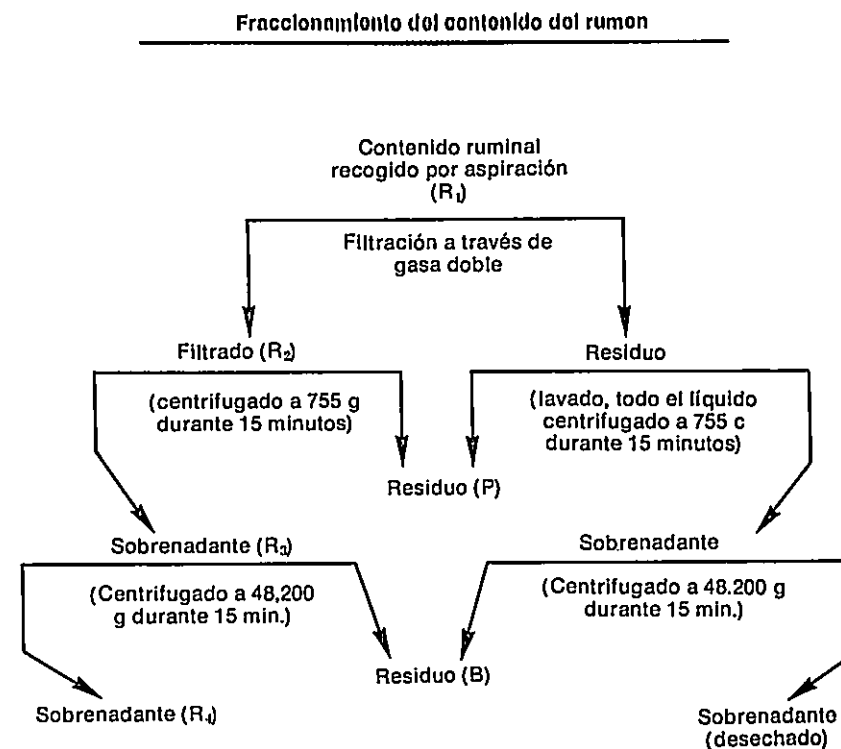


TABLA V
Composición de las distintas fracciones del contenido ruminal

	Fracción del contenido ruminal*1					
	R1	R2	R3	R4	P*2	B*2
Materia seca (%)	5,55	3,05	1,40	1,03	24,55	1,50
N-total (% de M. S.)	3,56	4,83	5,17	1,70	8,48	9,95
N-DNA mg/100 g. de muestra	7,01	5,26	0,99	—	—	—
mg/100 g. de M. S.	126,37	172,63	71,19	—	286,43	817,33
N-RNA mg/100 g. de muestra	14,28	6,06	1,27	—	—	—
mg/100 g. de M. S.	259,63	198,88	91,17	—	442,19	802,14
N-A. N. (% de materia seca)	0,38	0,37	0,16	—	0,72	1,61
N-A. N. (% del N total)	10,81	7,68	3,13	—	8,59	16,26
RNA/DNA	1,91	1,07	1,19	—	1,44	0,91

*1. La descripción de las distintas fracciones se encuentra en el diagrama I.

*2. La materia seca de las fracciones P y B está expresada como porcentaje de la materia seca de la fracción R1.

En los primeros experimentos realizados se encontró una gran variabilidad en la concentración de los A. N. del contenido del rumen. Para comprobar si esta variabilidad estaba relacionada con la hora de toma de las muestras, se recogieron muestras del contenido del rumen y del duodeno de la oveja núm. 1 (mantenida con heno y maíz) a intervalos regulares durante 2 días consecutivos.

Se tomaron unos 3 ó 4 mls. de cada muestra con el fin de determinar su contenido en materia seca y el resto se congeló inmediatamente a -12°C . Como el porcentaje en materia seca era muy similar en las muestras tomadas a la misma hora del mismo órgano, se descongelaron las muestras y cada una de las tomadas el primer día se mezcló con un volumen igual de la muestra tomada del mismo órgano y a la misma hora en el segundo día.

Se determinó la materia seca y el DNA de las muestras resultantes, los resul-

TABLA VI

Materia seca del contenido del rumen según el método de muestreo

Método de muestreo	Aspiración a través de un tubo de 8 mm. diámetro	Aspiración a través de un tubo de 25 mm. diam.	Vaciado a través de la cánula
N.º de determinaciones	18	18	5
Materia seca (% \pm S. D.)	4,9 \pm 1,5	6,8 \pm 1,0	11,5 \pm 1,3

TABLA VII

Variaciones diurnas en el nivel de materia seca y de N-DNA en los contenidos de rumen y del duodeno

Horas transcurridas desde la ingestión del alimento hasta la toma de la muestra	Contenido del rumen			Contenido del duodeno		
	(% \pm D. S.) M. S.	N-DNA		(% \pm D. S.) M. S.	N-DNA	
		mg/ 100 ml.	mg/ 100 g M. S.		mg/ 100 ml.	mg/ 100 g M. S.
0	5,0 \pm 1,5	2,5	50,0	8,6 \pm 1,0	4,0	46,5
1	10,0 \pm 1,0	4,5	45,0	12,0 \pm 2,0	5,2	43,3
2	11,2 \pm 2,0	5,3	47,3	11,0 \pm 2,1	4,9	44,5
3	11,5 \pm 1,5	5,5	47,8	11,5 \pm 1,5	4,5	39,1
4	12,5 \pm 2,1	6,2	49,6	11,4 \pm 1,7	5,0	43,8
5	12,0 \pm 1,0	6,0	50,0	12,0 \pm 1,3	5,1	42,5
6	10,4 \pm 1,5	5,6	53,8	12,2 \pm 1,5	4,9	40,1
7	7,0 \pm 1,2	3,4	48,6	11,6 \pm 2,1	4,9	42,2
8	7,0 \pm 1,3	3,5	50,0	11,6 \pm 2,0	4,8	42,3
9	6,0 \pm 1,3	3,0	50,0	11,8 \pm 2,0	5,2	44,0
16	3,9 \pm 0,9	2,0	51,3	8,0 \pm 1,5	4,0	50,0
17	4,0 \pm 1,0	2,0	50,0	9,5 \pm 2,1	4,7	49,5
18	4,3 \pm 1,2	2,2	51,2	10,0 \pm 2,0	5,0	50,0

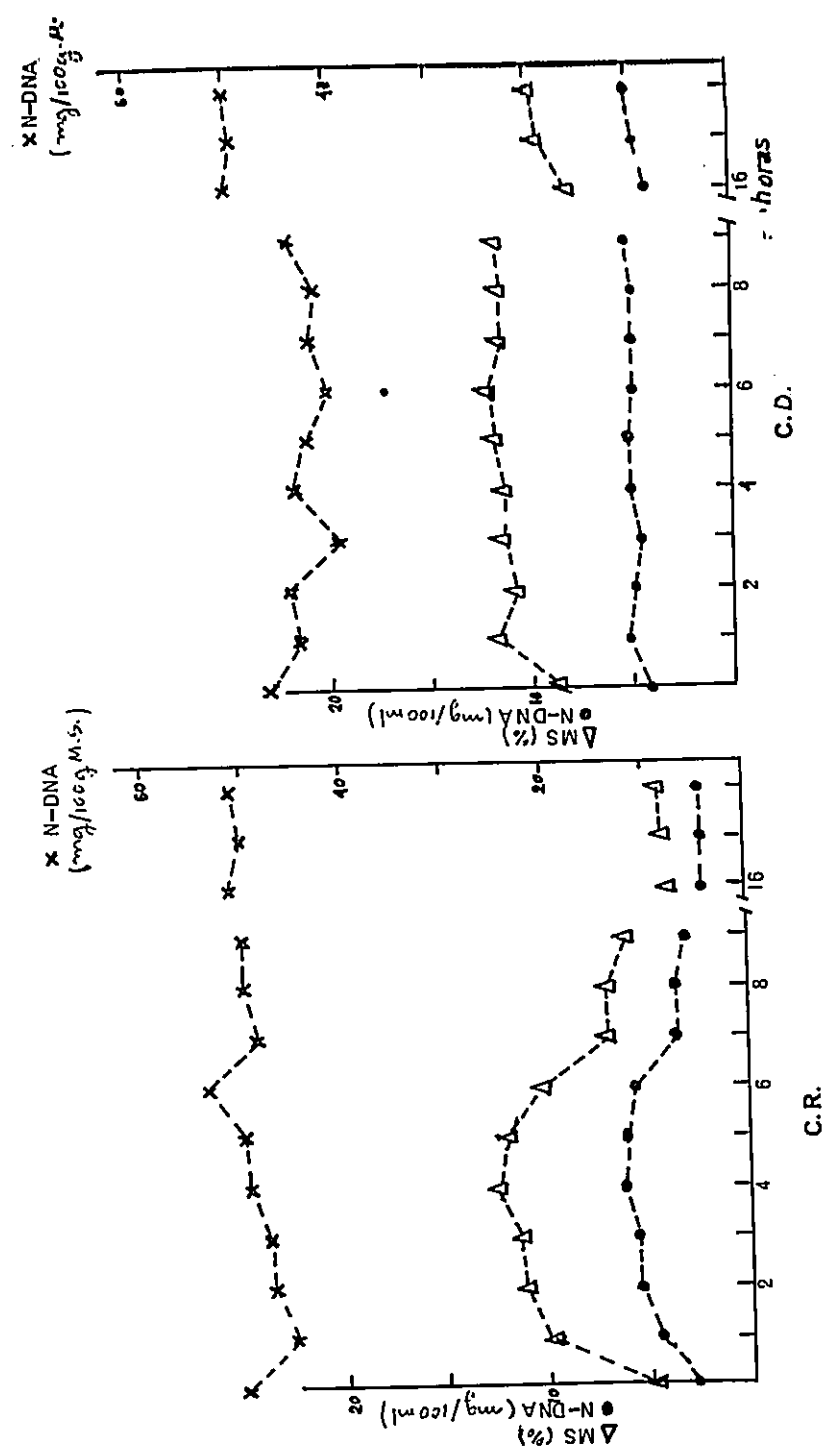


FIGURA II

Variaciones diurnas en la concentración de sustancia seca (X) y de N-DNA expresado por 100 ml. (Δ) y por 100 gramos de Sustancia seca (X) en los contenidos del rumen y del duodeno.

Experimento realizado en la oveja núm. 1 mantenida con heno y maíz
C. R. = contenido del rumen
C. D. = contenido del duodeno
M. S. = materia seca

TABLA VIII

Composición del contenido de diversos órganos y tramos del aparato digestivo de los
óvidos adultos alimentados con dos raciones diarias

Procedencias de las muestras		Dieta	N.º deter- minaciones	M. S. (%)	mg./100 ml.			
Órgano, tramo	Animales (núms.)				N-total	N-DNA	N-RNA	N-A. R.
Rumen	1-6, 10-12	h-m	29	5,0 ± 2,0	160,0 ± 48,0	4,8 ± 2,1	10,3 ± 3,5	13,8 ± 4,0
Rumen	1-5,	a	16	11,3 ± 1,5	392,2 ± 35,0	10,2 ± 1,5	19,5 ± 7,1	39,0 ± 7,5
Librillo	4,5	h-m	3	4,7 ± 2,1	170,0 ± 15,3	5,3 ± 1,5	7,8 ± 0,6	12,6 ± 3,2
Librillo	4,5	a	3	6,5 ± 2,0	310,7 ± 28,5	10,6 ± 2,0	19,0 ± 1,3	29,8 ± 4,5
Cuajar	1, 2, 3	h-m	10	7,5 ± 1,5	147,0 ± 13,0	4,9 ± 1,0	8,6 ± 2,2	13,6 ± 3,6
Cuajar	1, 2, 3	a	10	9,3 ± 2,0	358,7 ± 30,6	13,6 ± 2,4	22,0 ± 3,3	35,0 ± 3,8
Duodeno	1-6	h-m	12	6,0 ± 2,0	197,0 ± 44,0	4,1 ± 1,9	7,0 ± 1,5	11,2 ± 4,6
Duodeno	1-5	a	8	7,9 ± 1,8	300,0 ± 50,6	13,0 ± 3,6	20,7 ± 4,7	32,0 ± 3,0
Ileo	1, 2	h-m	6	9,0 ± 2,2	158,0 ± 14,0	2,0 ± 0,9	2,4 ± 0,4	4,3 ± 1,0
Ileo	1, 2	a	7	10,0 ± 3,0	260,5 ± 20,4	3,0 ± 0,6	4,2 ± 1,0	7,8 ± 2,2
Ciego	3, 6	h-m	5	12,2 ± 1,5	163,5 ± 5,3	3,4 ± 0,7	6,0 ± 0,5	9,1 ± 0,2
Ciego	3	a	3	12,3 ± 0,9	250,7 ± 10,3	5,5 ± 0,8	9,6 ± 1,2	15,6 ± 1,0

TABLA VIII (continuación)

Procedencia de las muestras		Dieta	N.º determi- naciones	N-Total (% en M. S.)	N-A. N. (mg/100 g M. S.)	N-A. N. (% del N total)	RNA/DNA
Órgano o tramo	Animales (núms)						
Rumen	1-6, 10-12	h-m	29	3,0 ± 0,2	340,5 ± 65,0	8,3 ± 4,2	1,1-2,7
Rumen	1-5,	a	16	3,6 ± 0,5	400,0 ± 50,0	10,2 ± 3,3	1,3-2,2
Librillo	4,5	h-m	3	3,4 ± 0,5	386,0 ± 42,5	8,0 ± 2,1	1,2-1,5
Librillo	4,5	a	3	4,5 ± 0,9	429,7 ± 29,7	9,5 ± 2,2	1,5-1,7
Cuajar	1, 2, 3	h-m	10	1,8 ± 0,2	170,0 ± 18,0	9,2 ± 3,6	1,1-2,2
Cuajar	1, 2, 3,	a	10	3,9 ± 0,5	350,0 ± 22,3	10,0 ± 4,0	1,3-2,0
Duodeno	1-6	h-m	12	2,8 ± 0,3	160,0 ± 21,7	6,6 ± 2,0	1,0-3,0
Duodeno	1-5	a	8	3,9 ± 0,6	300,2 ± 33,0	7,5 ± 3,6	1,3-2,0
Ileo	1,2	h-m	6	1,7 ± 0,2	47,7 ± 6,0	2,7 ± 0,7	1,0-1,5
Ileo	1,2	a	7	2,5 ± 0,3	98,9 ± 18,5	2,9 ± 0,9	0,9-1,6
Ciego	3,6	h-m	5	1,3 ± 0,3	99,1 ± 8,5	5,8 ± 0,8	1,5-1,9
Ciego	3	a	3	2,1 ± 0,8	168,5 ± 10,3	6,0 ± 0,4	1,7-2,0

Indos aparecen en la tabla VII y se representan gráficamente en la figura II. La concentración de materia seca representa la media y la desviación standard de los tres valores correspondientes a las muestras tomadas el primer día, el segundo, y a la mezcla de ambas.

D) Análisis del contenido del rumen, librillo, cuajar, duodeno, fleo y ciego de óvidos adultos cuya ración diaria se suministró en dos tomas.

Se tomaron muestras del contenido de los órganos anulados de los animales números 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10 y 11, alimentos con heno y maíz y de los 5 primeros alimentados con alfalfa. El alimento se administró a las 8,30 de la mañana y a las 5,00 de la tarde.

Se analizó el contenido en materia seca, N total y A. N. de las muestras. En la tabla VIII se representa la media (\pm D. S.) de todos los resultados obtenidos.

No se observaron diferencias significativas entre animales alimentados con la misma dieta ($P > 0,1$) y entre muestras tomadas de un mismo órgano a distintas horas ($P > 1$) con la excepción del contenido ruminal.

E) Análisis del contenido del rumen, librillo y duodeno del carnero núm. 5 cuya ración diaria se suministró en 12 tomas.

Durante el experimento se mantuvo al animal en una jaula metabólica en la que, por medio de un sistema automático, se le administró la dieta diaria de heno y maíz en 12 raciones iguales, una cada dos horas. Después de un período de adaptación de 3 días se recogieron muestras del rumen, librillo y duodeno a las 11, 15 y 17 horas.

A continuación se sometió al animal a un cambio gradual de dieta, pasando a recibir una ración de alfalfa granulada; transcurridos ocho días de efectuado el cambio se tomaron muestras del rumen, librillo y duodeno a las mismas horas que en el caso anterior. En la Tabla IX aparecen los resultados obtenidos.

F) Composición de las heces.

Los animales números 3 y 4, alimentados con alfalfa, se mantuvieron en jaulas metabólicas durante 25 días. Las heces se recogieron y pesaron diariamente y durante los últimos cinco días se tomaron muestras representativas para ser analizadas.

Se tomaron igualmente muestras de las heces de los animales números 1, 2, 3 y 6, mantenidos con la dieta de heno y maíz.

Durante un período de 10 a 32 días se recogieron y pesaron diariamente las heces excretadas, tomándose por cada oveja de 3 a 5 muestras representativas de otros tantos días.

En la Tabla X se representan los resultados obtenidos y en la Tabla XI un cálculo de la excreción total diaria.

III.II. Corderos.

A) Grupo a.

Tal como se ha indicado en el capítulo anterior, este grupo constaba de 2 cor-

TABLA IX

Composición del contenido de distintos órganos y tramos del aparato digestivo de los óvidos adultos alimentados con dos raciones diarias

Dieta	órgano o tramo	M. S. (%)	mg. de N-A. N.		N-A. N. (% del N total)	RNA/DNA
			en 100 g. muestra	en 100 g M. S.		
h-m	Rumen	7,1 \pm 0,3	25,0 \pm 2,6	351,2 \pm 24,6	6,3 \pm 0,7	1,6-1,8
h-m	Librillo	4,5 \pm 0,1	19,2 \pm 1,4	420,6 \pm 35,8	3,6 \pm 0,2	1,6-1,7
h-m	Duodeno	7,9 \pm 0,1	20,8 \pm 0,2	262,4 \pm 40,0	3,3 \pm 0,4	1,5-1,9
a	Rumen	11,5 \pm 0,6	38,7 \pm 3,3	335,8 \pm 46,4	12,9 \pm 1,2	1,3-1,4
a	Librillo	7,9 \pm 1,0	26,4 \pm 4,2	334,0 \pm 38,7	8,0 \pm 0,9	1,1-1,6
a	Duodeno	6,2 \pm 0,5	19,9 \pm 1,7	322,5 \pm 12,3	8,7 \pm 1,0	1,3-1,8

TABLA X

Composición de las heces de óvidos adultos

Dieta	Heno y Maíz	Alfalfa granulada
N.º de muestras analizadas	16	10
Excreción diaria (gr)	703 \pm 180	604 \pm 108
M. S. (%)	36,8 \pm 2,5	36,4 \pm 1,0
N total (% en M. S.)	1,6 \pm 0,3	1,8 \pm 0,3
N-DNA (mg/100 g M. S.)	36,0 \pm 9,4	38,0 \pm 6,8
N-RNA (mg/100 g M. S.)	69,5 \pm 7,0	69,3 \pm 10,0
N-A. N. (mg/100 g M. S.)	105,6 \pm 10,5	107,3 \pm 16,0
N-A. N. (% del N total)	6,4 \pm 0,8	6,2 \pm 0,6
RNA/DNA	1,9 \pm 0,5	1,8 \pm 0,2

TABLA XI

Excreción diaria en óvidos adultos

Dieta	Heno y maíz	Alfalfa granulada
M. S. (gr)	259,0 \pm 66,0	219,0 \pm 38,0
N total (gr)	4,2 \pm 1,1	4,1 \pm 0,7
N-DNA (mg)	93,3 \pm 18,3	83,3 \pm 14,0
N-RNA (mg)	180,0 \pm 12,2	151,7 \pm 15,7
N-A. N. (mg)	274,0 \pm 25,6	336,0 \pm 29,8

TABLA XII

Composición de la dieta, contenido ruminal y heces de los corderos del grupo «a»

Muestra	Alimento	Contenido ruminal	Heces
M. S. (%)	85,0 ± 1,0	5,6 ± 1,5	31,0 ± 1,1
N total (mg/100 ml. o gr.)	2198 ± 0,7	178,4 ± 1,5	483,4 ± 62
N-DNA (mg/100 ml. o gr.)	17,0 ± 2,0	2,2 ± 0,3	6,4 ± 0,2
N-RNA (mg/100 ml. o gr.)	5,7 ± 0,8	6,4 ± 2,1	23,6 ± 4,5
N-A. N. (mg/100 ml. o gr.)	22,8 ± 0,3	10,3 ± 3,8	30,1 ± 4,5
N total (g/100 g M. S.)	2,5 ± 0,1	3,6 ± 1,6	1,5 ± 0,2
N-A. N. (mg/100 g M. S.)	26,8 ± 1,0	199,2 ± 59	96,8 ± 23
N-A. N. (% del N total)	1,0 ± 0,3	5,7 ± 2,6	6,2 ± 0,5
RNA/DNA	0,03 — 0,05	2,2 — 5,0	2,3 — 3,9
N.º de muestras analizadas	3	4	4

deros normales y 2 SPF, alimentados «ad libitum» con la dieta A de la que ingerían unos 800 g. diarios.

Las muestras del rumen se tomaron por medio de una sonda esofágica.

Se recogieron las heces de cada cordero durante dos días, siendo la excreción diaria de 672,6 ± 35 g.

Se determinó el contenido en materia seca, nitrógeno total y ácidos nucleicos en las muestras del alimento, de las heces y del contenido ruminal. Los resultados obtenidos se indican en las Tablas XII y XIII.

B) Grupo b.

Este grupo estaba constituido por un cordero criado por el sistema convencional, otro exento de gérmenes y 3 que poseían una flora ruminal definida limitada, respectivamente, a una, ocho y once especies bacterianas.

Estos corderos recibieron la dieta B, cuyo contenido en materia seca era del 92,2 % y el nitrógeno total equivalía al 3,49 % de la sustancia seca.

Las muestras procedentes de estos animales fueron tomadas inmediatamente después de ser sacrificados; los resultados de los análisis aparecen en la Tabla XIV.

TABLA XIII

Excreción e ingestión diaria de los corderos del grupo «a»

	Ingestión	Excreción
M. S. (gr)	680,0	209,0
N total (gr)	17,5	3,8
N-A. N. (mg)	185,9	201,5
N-A. N. (% del N total)	1,0	6,2

TABLA XIV

Composición del contenido de diversos órganos y tramos del aparato digestivo de los corderos del grupo «b»

Cordero	Edad (semanas)	Procedencia muestra	M. S. (%)	mg./100 ml.			
				N. Total	N-DNA	N-RNA	N-A. N.
Normal	18	Rumen	18,1 ± 0,1	675,0 ± 0,3	5,2 ± 0,5	18,3 ± 0,2	23,6 ± 0,3
Exento de gérmenes	17	Rumen	1,5	—	0,07	0,13	0,20
		Duodeno	1,4	—	0,12	0,07	0,19
		Ileo Ciego	2,8 2,9	—	0,22 0,16	0,15 0,24	0,37 0,40
F. L.-1*	17	Rumen	—	—	0,44	1,09	1,53
		Duodeno	—	—	1,42	2,31	3,73
		Ileo Ciego	—	—	2,32 1,26	3,01 2,04	5,33 3,30
F. L.-8*	20	Rumen	22,0	899,5	4,01	11,77	15,78
F. L.-11*	2	Rumen	1,4	357,5	0,30	0,60	0,90
		Intestino grueso	28,3	880,0	6,45	8,24	14,69

TABLA XIV (Continuación)

Cordero	Procedencia muestra	En 100 g de M. S.		N-A. N. (% del N total)	RNA/DNA
		N Total (g)	N-A. N. (mg)		
Normal	Rumen	3,7 ± 0,8	130,2 ± 1,6	3,5 ± 0,3	3,1
Exento de gérmenes	Rumen		13,3		
	Duodeno		13,5		
	Ileo		13,2		
	Ciego		13,7		
F. L.-8*	Rumen	4,0	71,6	1,7	2,7
F. L.-11*	Rumen	2,5	62,9	0,2	2,0
	Intestino grueso	3,1	51,7	1,6	1,2

- * F. L.-1 Cordero con flora ruminal = limitada a una especie de bacterias
 * F. L.-8 Cordero con flora ruminal = limitada a 8 especies de bacterias
 * F. L.-11 Cordero con flora ruminal = limitada a 11 especies de bacterias

III.III. Conejos.

Las muestras del contenido del estómago, intestino delgado y ciego de los conejos, se tomaron siempre «post mortem», tal como se ha descrito en el capítulo anterior.

La dieta de tres conejos se suplementó durante tres días con dos gramos diarios de RNA. Al final de este período los animales fueron sacrificados y se recogieron las muestras del contenido del aparato digestivo de la forma habitual. En la Tabla XV figuran los resultados obtenidos.

DISCUSION

La determinación de los A. N. se basa en el análisis químico del fósforo, el azúcar o las bases nitrogenadas que contienen.

El primer paso consiste en la eliminación de los lípidos y de las sustancias de bajo peso molecular de la muestra por medio de varias extracciones con solventes orgánicos y ácidos.

Existen diversas modificaciones de tres métodos principales que son los siguientes:

1) En el procedimiento de SCHNEIDER (1945) el DNA y el RNA se extraen conjuntamente por medio de ácido tricloroacético en caliente o ácido perclórico. Mediante reacciones colorimétricas específicas se determina la concentración de cada ácido, generalmente se usa el orcinol para la ribosa y la defenilamina para la

TABLA XV

Composición del contenido del aparato digestivo de los conejos

Procedencia de la muestra	Estómago		Intestino delgado		Ciego		Estómago		Intestino delgado		Ciego	
	g. c.		g. c.		g. c.		g. c. + RNA		g. c. + RNA		g. c. + RNA	
Dieta*	12		12		12		3		3		3	
N.º determinaciones	13,5 ± 3,1		11,0 ± 4,2		23,1 ± 5,7		12,8 ± 0,4		8,7 ± 0,2		24,5 ± 1,0	
M. S. (%)	478,8 ± 8,0		407,8 ± 6,4		987,7 ± 5,3		745,5 ± 4,6		760,6 ± 3,2		1235,1 ± 38,5	
N total (mg/100 g)	9,1 ± 3,3		9,2 ± 3,0		30,5 ± 3,5		14,5 ± 0,8		—		33,1 ± 1,4	
N-DNA (mg/100 g)	13,5 ± 5,1		14,0 ± 2,0		35,5 ± 1,9		13,5 ± 1,3		—		33,9 ± 3,4	
N-RNA (mg/100 g)	22,6 ± 8,5		23,2 ± 6,0		66,1 ± 5,5		28,9 ± 1,8		—		67,9 ± 4,3	
N-A. N. (mg/100 g)	3,5 ± 1,6		3,6 ± 0,9		4,2 ± 1,1		5,7 ± 0,4		—		5,0 ± 0,5	
N total (% en M. S.)	167,4 ± 15,8		210,9 ± 13,6		285,5 ± 20,4		219,6 ± 8,0		—		272,7 ± 19,5	
N-A. N. (mg/100 g M. S.)	4,3 ± 0,7		5,8 ± 1,0		6,4 ± 0,9		3,7 ± 0,5		—		5,4 ± 0,6	
N-A. N. (% del N total)	1,7 — 1,7		1,3 — 1,6		1,3 — 1,8		0,8 — 1,1		—		0,9 — 1,3	
RNA/DNA												

* g. c. = gránulos comerciales

* g. c. + RNA = gránulos comerciales suplementados con 2 gr. diarios de RNA

desoxirribosa. Este método tiene el inconveniente de que existen múltiples factores que pueden interferir en la reacción.

2) En el método de SCHMIDT y THANNHAUSER (1945) el RNA se separa del DNA mediante hidrólisis en álcali diluido, que no afecta a este último. Al acidificar este hidrolizado se precipitan el DNA y las proteínas, mientras que los ribonucleótidos permanecen en disolución. En el método original se determinaba el contenido en fósforo de cada fracción.

3) En el método de OGUR-ROSEN (1950) el RNA se extrae con ácido perclórico normal a 4°C durante 18 horas y el DNA con ácido perclórico 0,5 N a 7°C durante 20 minutos. Cada una de las fracciones se puede determinar analizando su contenido en fósforo, azúcar o bases nitrogenadas.

En este trabajo se siguió una modificación de los dos primeros métodos, descrita por McALLAN y SMITH (1969). Según estos autores, el porcentaje de recuperación de los A. N. añadidos al contenido del rumen o del duodeno era del 96 % para el DNA y el 93 % para el RNA. Como puede verse en la tabla II, en el curso de este trabajo, la recuperación de los ácidos nucleicos fue más baja cuando se añadieron al contenido del aparato digestivo (85-89 %) que cuando se añadieron a los residuos secos procedentes de las mismas muestras (96-99 %). Esto puede ser debido a la rápida degradación de los A. N. previa a la adición de los reactivos, pero el intervalo de tiempo era muy pequeño por lo que, posiblemente, este menor porcentaje de recuperación sea debido a la pérdida de material particulado en el curso de las diversas extracciones.

La determinación de los A. N. en los tejidos vegetales es más difícil que en los animales debido a la presencia de hidratos de carbono y a otras sustancias que presentan una absorbancia a 260 m μ y, por lo tanto, interfieren con la determinación del azúcar o de los mononucleótidos.

Según OVEREND y col. (1950) la xilosa interfiere con la determinación de la desoxirribosa, pero en este trabajo, no se pudo detectar dicha interferencia.

En una revisión de los métodos empleados para determinar los ácidos nucleicos en las plantas, BROUGHTON (1970) llegó a la conclusión de que el Schmidt-Thannhauser es el más exacto.

Conviene tener en cuenta que los términos DNA y RNA designan dos clases de polinucleótidos y no dos sustancias de composición química fija e invariable. Se sabe que la proporción de las bases de los A. N. varía ampliamente según la procedencia de dichos ácidos y según las condiciones metabólicas del material del cual proceden (DAVIDSON, 1969). Este puede ser el motivo de que el contenido en A. N. de la primera partida de heno difiriera notablemente de las otras dos, pero, tal como se puede ver en la tabla III, la cantidad de nitrógeno nucleínico, expresada como porcentaje del nitrógeno total, era muy parecida en las tres partidas. GAUSSE-RES y FAUCONNEAU (1965) han descrito una adaptación del método de Schmidt-Thannhauser para determinar los ácidos nucleicos presentes en los alimentos, en los microorganismos y en el contenido del aparato digestivo. Los pasos analíticos

con este método modificando son los siguientes: se extraen primeramente los componentes solubles de la muestra con etanol y ácido tricloroacético con lo cual se obtiene un residuo que contiene los ácidos nucleicos y las proteínas. A partir de dicho residuo seco se separa el RNA y el DNA mediante extracción alcalina y ácida respectivamente. Por último, se determina el DNA por la absorbancia de las bases púricas presentes en la extracción ácida una vez separadas por cromatografía en columna.

Este método fue utilizado por nosotros en algunos experimentos previos, pero la recuperación del DNA añadido al contenido ruminal, fue del 74 ± 5 % (media y S. D. de 5 muestras) por lo que consecuentemente se utilizó el método de McAllan y Smith.

GAUSSE-RES y FAUCONNEAU (1965) estudiaron la relación entre el nitrógeno desoxiribonucleico (N-DNA) y el nitrógeno de las bases púricas en diversos alimentos y encontraron que dicha relación variaba desde 1,5 en los concentrados hasta 10,0 en la alfalfa. En el contenido ruminal de óvulos esta relación variaba con la dieta, siendo de 12 con una dieta a base de concentrados y de 20 con una dieta de ballico. En los microorganismos de la panza esta misma relación era de 28,5 para las bacterias y de 23,5 para los protozoos.

SMITH y McALLAN (1969) determinaron que el nitrógeno nucleínico (N-A. N.) expresado como porcentaje de nitrógeno total era del 9,4 en el heno, 10,1 en la paja, 2,0 en el maíz en copos y 6,3 en el pasto. La relación N-RNA/N-DNA fue respectivamente de 2,6, 9,5, 4,6 y 1,9. Se puede observar que los valores obtenidos para la paja son mayores que los de los restantes alimentos, quizá debido a la pérdida citoplasmática sufrida por las células de los tejidos de la paja.

Con el fin de estudiar la distribución de los A. N. en el contenido del rumen, se realizó la separación de éste en diversas fracciones, tal como se indica en el diagrama 1. Se han admitido las siguientes suposiciones:

- 1) La fracción R1 representa el contenido total del rumen.
- 2) La fracción R2 está desprovista de partículas alimenticias groseras y las consiguientes bacterias unidas a ellas, por lo tanto, contiene solamente partículas finamente divididas, bacterias y protozoos y se asemeja por lo tanto al fluido que pasa al librillo.
- 3) La fracción R3 contiene solamente las bacterias de menor tamaño.
- 4) El líquido sobrenadante después de centrifugar el contenido del rumen a 48.200 g no contiene ningún tipo de células.
- 5) El residuo P está constituido por los protozoos y las bacterias de mayor tamaño que se depositan con ellos.
- 6) El residuo B contiene las bacterias ruminales más pequeñas.

Diversos autores han utilizado métodos parecidos para separar los microorganismos de la panza. Así, McNAUGHT y col. (1950), con el fin de obtener bacterias ruminales, primeramente filtraron el contenido del rumen y centrifugaron el filtrado

a 800 g. durante 5 minutos para sedimentar los protozoos y partículas finamente divididas. A continuación incubaban el sobrenadante con maltosa y urea para favorecer el crecimiento bacteriano y finalmente sedimentaban las bacterias por centrifugación a 14.500 g. En otras experiencias (Mc NAUGHT y col., 1954) obtuvieron los protozoos simplemente por decantación del fluido ruminal previamente filtrado.

Estos autores encontraron que las preparaciones de bacterias y protozoos ruminales así obtenidas contenían, respectivamente, un 11,2 y 8,2 % de humedad y un 41,8 y 26,5 % de proteína (N total \times 6,25). De acuerdo con estas cifras, el N total representaba el 7,6 % de la sustancia seca en las preparaciones de bacterias y el 4,6 % en las de protozoos.

En el trabajo que presentamos, el N total representaba el 9,8 y el 8,4 % de la sustancia seca de las fracciones B y P respectivamente. La razón RNA/DNA fue de 0,91 en B, 1,44 en p y 1,91 en el contenido ruminal completo. El porcentaje de N total en forma de N-DNA y N-RNA fue, respectivamente, 8,5 y 7,7 en la fracción B y 3,3 y 5,2 en P.

Estas cifras son comparables a las halladas por McALLAN y SMITH (1972) quienes determinaron la proporción del N total representado por el N-DNA y N-RNA en una mezcla de microorganismos ruminales y encontraron valores del 5,1 y 7,6 % en óvidos adultos, 5,1 y 7,0 en vacas y 6,6 y 11,4 % en terneros para el N-DNA y el N-RNA, respectivamente.

Parece ser que las condiciones ambientales no ejercen gran influencia sobre la relación entre el DNA y la proteína celular de los microorganismos. En cambio, la cantidad de ribosomas presentes en las células está directamente relacionada con la síntesis proteica y la razón RNA/DNA puede llegar a triplicarse (NIEDHARDT, 1963). Sin embargo, McALLAN y SMITH (1972) comparando las razones N-RNA/N total y N-DNA/N total en bacterias ruminales procedentes de óvidos y bóvidos, observaron que la desviación standard de la razón N-RNA/N, total expresada como porcentaje de la media, era aproximadamente el doble que la de la relación N-DNA/N total.

VENDRELY (1946) observó que la razón RNA/DNA variaba de 1,9 a 2,6 en las distintas cepas de *E. coli*.

La dieta que recibe el animal también parece influir en la concentración de los A. N. microbianos. GAUSSERES y FAUCONNEAU (1965) estudiaron la razón RNA/DNA en bacterias y protozoos ruminales y encontraron valores de, respectivamente, 1,9 y 2,0 cuando la dieta se componía de heno y concentrados y de 2,6 y 2,5 con una dieta a base de berzas.

Los resultados presentados en la Tabla V nos permiten observar lo siguiente:

a) Los A. N. del contenido ruminal se encuentran en las fracciones de éste que contienen células.

b) La concentración de N-A. N. expresada como porcentaje de la materia seca, es mayor en la fracción bacteriana que en la protozoaria.

c) Considerando que el contenido ruminal, obtenido por aspiración a través de la cánula, contiene un 5,5 de sustancia seca, de la cual los protozoos representan un 24,5 % y las bacterias un 1,5 %, no puede calcularse que por cada 100 gr. de fluido ruminal existen aproximadamente 1,4 gr. de materia seca de origen protozoario y 0,09 gr. de origen bacteriano, siendo los 4,0 gr. restantes de origen endógeno y alimentario.

La relación entre el período transcurrido después de la ingestión del alimento y la concentración de N-DNA en el contenido ruminal (Tabla VII, Figura II) ha sido también observada por varios autores. Así, TOPPS y ELLIOT (1965) encontraron que la concentración de ácidos nucleicos en el contenido ruminal era máxima en las muestras tomadas antes de que los animales recibieran su ración de la tarde, la concentración inmediata inferior correspondía generalmente a las muestras tomadas antes de la comida de la mañana. McALLAN y SMITH (1972) comprobaron que en las bacterias procedentes de muestras del rumen recogidas antes de la comida de la mañana, la razón N-A. N./N total representaba aproximadamente el 20,3 % de las cifras obtenidas a partir de muestras recogidas 4 ó 6 horas después de la comida.

GAUSSERES y FAUCONNEAU (1965) observaron que el número de microorganismos de la panza y la concentración del DNA, las bases púricas y el N total del contenido del rumen disminuían inmediatamente después de la ingestión del alimento y experimentaban un aumento posteriormente. En efecto, es bien sabido que el número de microorganismos de la panza aumenta con la ingestión del alimento aunque existe primeramente una disminución aparente debida a un efecto de dilución (HUNGATE, 1966).

BOYNE y col. (1956) determinaban la concentración de materia seca en el contenido del retículo-rumen, librillo, intestino delgado y ciego, así como el nitrógeno total en el rumen, librillo y ciego en muestras tomadas de ovejas inmediatamente después del sacrificio. Pudieron observar estos autores que dichas concentraciones estaban relacionadas con el período transcurrido desde la última ingestión de alimentos. Para alcanzar la máxima concentración había de ser este período más largo cuanto más distal fuera el órgano cuyo contenido iba a ser analizado.

Se sabe que la osmolaridad, la conductividad específica, la materia seca, las cenizas, el potasio, el nitrógeno fecal, el amoníaco y los ácidos grasos volátiles del contenido del rumen de los óvidos aumenta rápidamente después de la ingestión del alimento (WARNER y STACY, 1965); sin embargo, WARNER (1966 a, b y c) llegó a la conclusión de que la hora de toma de la muestra y el tipo de dieta ejercen una influencia muy escasa o nula sobre la concentración de los microorganismos ruminales.

Las diferencias existentes en la concentración de materia seca del contenido ruminal, según el método de recogida de la muestra (Tabla VI) ponen de manifiesto las dificultades que se presentan para obtener muestras representativas. Las

muestras aspiradas a través de la cánula del rumen no representan el contenido completo de este órgano. A pesar de las contracciones del rumen, su contenido no es nunca homogéneo, siendo el contenido del saco ventral más fluido, generalmente, que el del dorsal, a no ser que el animal haya estado en ayunas durante mucho tiempo. La diferencia entre ambos sacos aumenta con el tiempo transcurrido desde la toma del alimento (PHILLIPSON y ASH, 1965). Se comprende pues, que una muestra representativa del contenido ruminal de un animal determinado y a una hora concreta, puede no ser representativa de la especie, ni siquiera del mismo animal a otra hora o en distintas circunstancias.

En los resultados expuestos en la Tabla VII, puede apreciarse que el nivel de materia seca y de N-DNA por 100 ml. del contenido ruminal aumenta desde el momento de la ingestión del alimento, alcanzando un valor máximo a las 3 ó 4 horas para después disminuir gradualmente hasta alcanzar un valor mínimo inmediatamente antes de la comida siguiente; por lo tanto, el contenido de N-DNA por 100 gr. de materia seca varía muy poco. Los cambios en la composición del contenido duodenal son parecidos aunque no tan acusados.

Al comparar la composición del contenido del aparato digestivo de óvidos adultos mantenidos con una u otra de las dos dietas utilizadas (Tabla VIII) se puede observar lo siguiente:

a) El porcentaje en materia seca es menor en el librillo que en el rumen y en el duodeno que en el cuajar en tanto que es superior en el cuajar que en el librillo así como en el íleo respecto al duodeno y en el ciego respecto al íleo.

b) Al comparar las muestras de los contenidos del rumen, librillo, cuajar y duodeno procedentes de los animales mantenidos con dietas distintas, se observa que la diferencia en el porcentaje de materia seca es significativa ($P < 0,05$).

c) La proporción de N-A. N., expresada en mg. por 100 ml. o como porcentaje de la materia seca, fue siempre más alta en los animales alimentados con alfalfa que en los alimentados con heno y maíz.

d) El porcentaje de N total perteneciente a los A. N. fue también mayor en los animales alimentados con alfalfa, pero las diferencias no fueron significativas.

e) La razón RNA/DNA osciló entre 0,9 y 3,0 en los contenidos de las distintas partes del aparato digestivo, correspondiendo al íleo los valores más bajos.

Si se comparan los resultados que figuran en la tabla VIII con los de la tabla IX, puede observarse que el porcentaje de materia seca y de N-A.N. de los contenidos del rumen, librillo y duodeno no varían de forma apreciable con el método de administración de la ración diaria (en dos o en doce porciones iguales).

La concentración en N-A. N. fue mayor en los animales alimentados cada dos horas solamente cuando la dieta estuvo constituida por heno y maíz y se expresó por cada 100 ml. de digesta, pero no al hacerlo sobre sustancia seca ni como porcentaje del N. total.

El N-A. N., expresado como tanto por ciento del nitrógeno total, fue muy se-

mejante para ambas dietas y métodos de administración, excepto en lo que se refiere al contenido del librillo de los animales alimentados con heno y maíz, cuya concentración era superior al ser alimentados dos veces al día que cuando ingerían alimentos cada dos horas, ($P < 0,01$).

El contenido en A. N. de las heces de los animales (Tabla X) fue independiente de la dieta empleada. La composición de las heces fue muy parecida a la del contenido del ciego al ser expresados los datos como porcentaje de la materia seca.

Posiblemente, la mayor parte del N de las heces, tanto el total como el nucleínico, proceda de los microorganismos (BLAXTER, 1964). Según MASON (1969 y 1971), del 57 al 81 % del N fecal no alimentario representa N microbiano sintetizado en el rumen.

La razón RNA/DNA del contenido ruminal es más alta en los corderos del grupo «a» (Tabla XII que en los óvidos adultos (Tablas VIII y X), pero esta es la única diferencia encontrada entre dichos grupos de animales en lo que hace referencia a la composición del contenido ruminal y de las heces.

En cuanto a los resultados obtenidos con los corderos del grupo «b» (Tabla XIV) es de resaltar que la concentración de N-A. N. en la materia seca del contenido del rumen del cordero criado de forma convencional es unas dos o tres veces mayor que en los corderos de flora limitada y unas diez veces mayor que en el cordero exento de gérmenes. La cantidad de N-A. N. en el contenido del rumen, duodeno, íleo y ciego del cordero exento de gérmenes es muy pequeña (entre 13,2 y 13,7 mg. por cada 100 g. de materia seca) y probablemente de origen alimentario y endógeno.

Es sabido que la descamación del epitelio del tracto alimentario es considerable, pudiendo sobrepasar los 200 g. diarios en el hombre (NASSET 1964); en el contenido del intestino delgado de animales monogástricos recién sacrificados, la mayor parte de la proteína procede de las secreciones digestivas y de las células descamadas, sólo una pequeña parte es de origen alimentario. Sin embargo, esta última influye en el metabolismo protéico y nucleínico de las células de la mucosa intestinal. MUNRO y GOLDBERG (1964) comprobaron que al suprimir la proteína de la dieta de ratas se reduce la incorporación del ^{32}P en el DNA de las células de la mucosa del intestino delgado, lo cual indica una reducción en el nivel de proliferación de dichas células. Así mismo, los niveles de nitrógeno protéico y de fósforo ribonucleico en el hígado y en el riñón de dichas ratas fue menor que en ratas alimentadas con una dieta que incluya proteínas.

La descamación intestinal aumenta considerablemente en el momento de la muerte del animal (BADA⁵Y y col., 1957; BADAWY, 1964; van KLOOSTER, 1967).

Recordemos que las muestras procedentes de los conejos se tomaron «post mortem» por lo que la descamación epitelial y la práctica de la coprofagia por parte de estos animales puede servir para explicar la alta concentración de ácidos nucleicos encontrada en el contenido del tracto digestivo de los conejos (Tabla XV).

CAPÍTULO IV

FLUJO DEL CONTENIDO GASTRO-INTESTINAL Y DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS EN EL TRACTO DIGESTIVO

Los experimentos descritos en este capítulo se llevaron a cabo con el fin de obtener datos sobre la cantidad de ácidos nucleicos que pasan a través del tracto digestivo. Se estudió la composición del contenido de diversos tramos del tracto digestivo, así como el flujo del mismo usando polietilenglicol (PEG) como sustancia de referencia.

EXPERIMENTOS Y RESULTADOS

IV.1. Ovidos adultos.

A) Recuperación del PEG añadido al contenido de distintos tramos del aparato digestivo.

En la Tabla XVI figuran los porcentajes de recuperación obtenidos cuando se añadieron entre 50 y 100 mg. de PEG por cada 100 ml. del contenido del rumen, cuajar, duodeno, íleo y ciego, procedentes de animales alimentados con la dieta de heno y maíz.

TABLA XVI

Recuperación del PEG añadido al contenido del aparato digestivo

Procedencia de la muestra	Recuperación del PEG (% de la cantidad añadida)	Número de determinaciones
Rumen	101,0 ± 3,6	8
Cuajar	99,5 ± 10,4	8
Duodeno	100,5 ± 3,0	9
Ileo	85,0 ± 2,8	10
Ciego	90,0 ± 3,5	7

B) Flujo del contenido gastro-intestinal y de los ácidos nucleicos.

En un experimento previo, se introdujeron en el rumen de la oveja número 2 (en dieta de heno y maíz) 12, 72 gr. de PEG de una sola vez. A intervalos regulares, se tomaron muestras del contenido del rumen y del duodeno en las que se determinaron las concentraciones de materia seca y de PEG. Como puede verse en la Tabla XVII y en la Figura III, aún al cabo de seis horas no se pudo apreciar un cambio paralelo en la concentración del marcador en el contenido de ambos órganos por lo cual, en experimentos sucesivos, se trató de obtener un paso constante de PEG a lo largo del tracto digestivo.

Se realizaron 16 experimentos con los animales números 1, 2, 3, 5, 6 y 7 variando la dieta (alfalfa granulada o heno y maíz) y el modo de administrarlo (en dos o en doce porciones diarias), tal como se indican en la Tabla XVIII.

El PEG se introdujo disuelto en agua a través de la cánula del rumen, bien continuamente por medio de una bomba de infusión continua, o en varias dosis infundidas a intervalos regulares.

Las muestras se obtuvieron a través de las diversas cánulas a intervalos de una a cuatro horas entre las 7,30 de la mañana y las 8,00 de la tarde y se analizó su contenido en materia seca, ácidos nucleicos, N total y PEG.

El flujo del contenido del aparato digestivo se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{Flujo} = \frac{\text{PEG infundido en el rumen (mg/h)}}{\text{PEG en la muestra (mg/ml)}}$$

TABLA XVII (Véase figura III)

Concentración de M. S. y de PEG en los contenidos del Rumen y del duodeno después de la adición de polietilenglicol (12,72 g) al contenido ruminal

Intervalo entre la adición de PEG y la toma de muestras (h)	+ mg. PEG/100 ml.		M. S. (%)	
	Contenido ruminal	Contenido duodenal	Contenido ruminal	Contenido duodenal
1	270,0	92,0	11,8	11,0
2	238,5	118,5	12,6	11,0
3,45	203,0	169,0	9,2	13,2
4,40	178,0	178,0	17,0	11,6
5,35	183,5	211,0	16,9	11,6
6,35	178,0	170,0	10,6	12,0

La concentración de PEG en las diversas muestras y el flujo de digesta están representados en las Tablas XIX y XX.

Cuando el PEG se infunde de un modo discontinuo es lógico pensar que debe existir un cambio brusco en su concentración, que no existiría en el caso de ser infundido continuamente. El cambio más marcado que se pudo observar en el curso de estos experimentos tuvo lugar en el contenido ruminal en el experimento núm. 1 y se encuentra representado en la Figura IV. Si en este experimento se calcula el paso de fluido ruminal a partir de las curvas obtenidas experimentalmente (Figura IV) se obtiene un valor medio de 1.040 ml/hora. Si se calcula el paso suponiendo que el flujo de PEG es constante (el indicado en la Tabla XIX) se obtiene un valor medio de 1.050 ml/hora. Por consiguiente, en todos los demás experimentos, se calculó el flujo de digesta suponiendo un ritmo constante en el paso del marcador a lo largo del aparato digestivo.

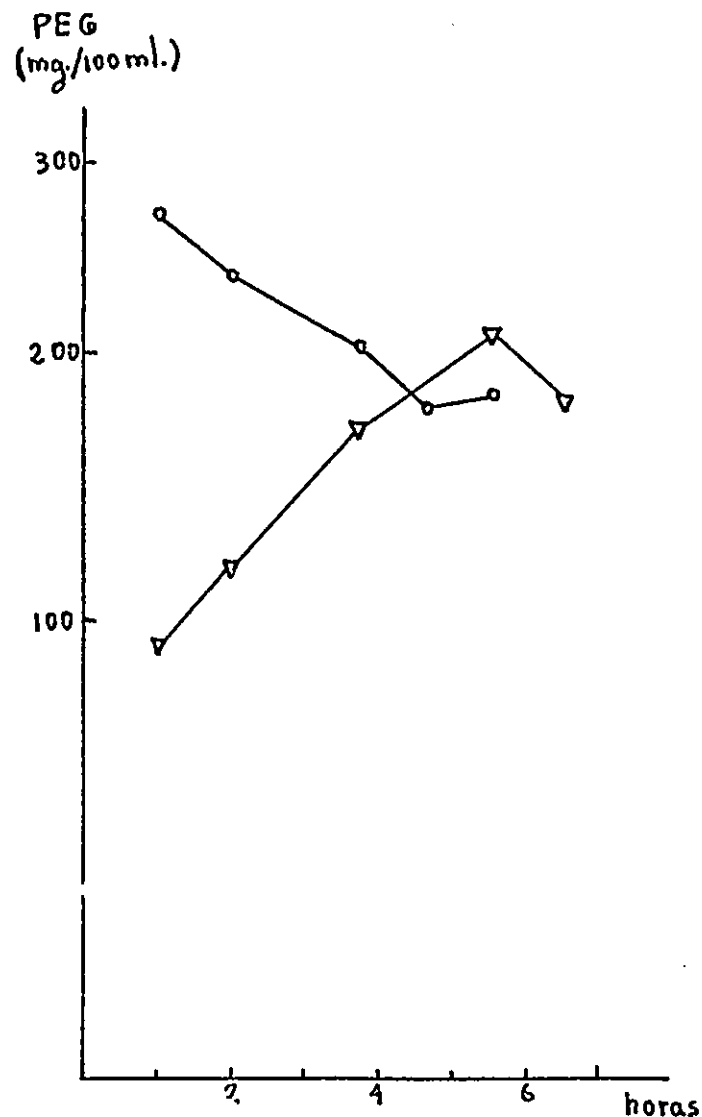


FIGURA III

Concentración de PEG en el contenido del rumen (○) y del duodeno (△) a distintas horas después de la introducción de 12,7 gr. de PEG. en el rumen de la oveja núm. 2 mantenida con heno y maíz.

TABLA XVIII

Resumen de los experimentos realizados para medir el paso del fluido y de ácidos nucleicos a lo largo del tracto digestivo

Dieta *1	Experimento número	Animal		Toma de muestras		
		Número	Peso Kg	Hora de la 1. ^a y de la última	Procedencia *2	Tomadas en cada órgano
h-m/2	1	1	60	7,30 - 17,30	R, Cu, D, I	6
"	2	1	55	9,30 - 18,30	"	4
"	3	1	52	8,00 - 20,00	"	3
"	5	2	50	8,00 - 16,00	R, D, I	3
"	6	2	50	8,30 - 18,00	"	3
"	7	2	55	8,00 - 16,30	"	3
"	9	3	58	9,00 - 17,00	R, Cu, D, Ci	4
"	10	3	56	11,30 - 14,30	"	3
"	11	7	44	10,00 - 16,00	R, D	3
"	12	7	44	10,00 - 16,00	"	3
"	13	6	40	11,00 - 16,00	R, D, Ci	3
a/2	4	1	60	9,30 - 16,30	R, Cu, D, I,	3
"	8	2	56	8,00 - 15,30	"	3
"	16	5	50	11,00 - 17,00	R, L, D	3
h-m/12	14	5	50	11,00 - 17,00	"	3
a/12	15	5	50	11,00 - 17,00	"	3

TABLA XVIII (Continuación)

Dieta *1	Experimento número	PEG administrado		Período de tiempo (h*4)
		Método utilizado	Cantidad (mg/h)	
h-m/2	1	500	d : 3 gr cada 6 horas	54
"	2	1.000	d : 4 gr cada 4 horas	59
"	3	2.000	d : 8 gr cada 4 horas	58
"	5	2.000	d : 8 gr cada 4 horas	34
"	6	1.500	Infusión constante	56
"	7	1.500	d : 9 gr cada 6 horas	33
"	9	1.110	Infusión constante	56
"	10	239,5	d : 1,43 gr cada 6 horas	51
"	11	1.000	d : 6 gr cada 6 horas	52
"	12	1.000	d : 6 gr cada 6 horas	52
"	13	417	Infusión constante	53
a/2	4	1.000	d : 4 gr cada 4 horas	53
"	8	1.500	d : 9 gr cada 6 horas	30
"	16	600	Infusión constante	30
h-m/12	14	600	Infusión constante	30
a/12	15	600	Infusión constante	30

- * 1 h-m/2=dieta de heno y maíz administrada en dos raciones diarias;
- * 1 h-m/2=dieta de heno y maíz administrada en doce raciones diarias;
- * 1 a/2=dieta de alfalfa administrada en dos raciones diarias;
- * 1 a/12=dieta de alfalfa administrada en doce raciones diarias;
- * 2 R=Rumen, L=Librillo, Cu=Cuajar, D=Duodeno, I=Íleo; Ci=Ciego;
- * 3 d=Administración del PEG en dosis aisladas
- * 4 período de tiempo incluyendo el período de toma de muestras

TABLA IX
COLUMNA A=concentración de PEG en el contenido del aparato digestivo (mg/100 ml)
Columna B=flujo del contenido del aparato digestivo (ml/hora)

Experimento 1118

Procedencia de muestra n.º 1	1		2		3		4		5		6		7		A	9		10		11		12		13		14		15		16		
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	
	(1,30)		(1,30)		(2,00)		(1,30)		(2,00)				(2,00)		(2,00)	(2,00)	(3,30)		(2,00)		(2,00)											
R1	73,5	680	91,0	1.098	350,0	571	400	650	605	330	467,5	320	768	558	667	228	110,0	1.010	48	500	258	387	261	383	136	306	75,0	600	165	364	283	212
L1															656	220	107,5	1.030	50	479							90,0	667	156	385	267	225
Cu1	57,5	870	87,0	1.149	310,0	645	369	271							514	202	107,5	1.030	50	479												
D1	47,2	1.060	79,0	1.265	262,5	761	348	287	430	465	367,5	408	327	459	514	202	105,0	1.055	44	545	233	429	240	417	114	365	70,0	857	106	566	152	395
I1	44,0	1.136	171,0	584	247,5	808	457	229	590	338	261,0	575	496	304	120	126																
Ci1																	355,0	313	158	151					523	80						
	(4,00)		(1,30)		(2,00)		(1,30)		(1,00)				(4,00)		(2,00)	(2,00)	(4,30)		(4,00)													
R2	47,2	1.060	128,4	778	386,5	517	360	271	560	557	390,0	384	360	417	820	183	35,0	1.300	46	520	289	346	273	567	125	333	87,5	686	176	341	262	224
L2																											100,0	600	195	308	210	250
Cu2	63,0	793	96,4	1.038	355,0	563	310	333							514	202	112,5	991	52	461												
D2	66,5	751	79,0	1.265	276,5	723	283	354	430	465	395,0	379	327	459	514	202	105,0	1.055	47	510	279	358	300	333	117	356	78,0	770	106	566	144	411
I2	44,0	1.136	181,0	552	376,5	531	366	271	645	310	257,5	580	479	313	100	160																
Ci2																	400,0	227	234	104					560	75						
	(5,15)		(0,05)		(2,00)		(0,15)		(2,00)						(2,00)	(2,00)	(0,30)		(2,00)		(2,00)											
R3	40,0	1.250	168,4	593	401,5	498	343	291	635	314	447,5	335	286	525	722	200	112,5	991	47	510	289	346	300	333	231	180	81,2	740	171	350	252	250
L3																											99,3	605	171	350	210	250
Cu3	58,0	862	101,4	986	445,0	449	366	271							551	271	140,0	793	51	470												
D3	58,0	862	106,0	943	380,5	525	437	287	560	357	467,5	320	333	450	450	334	135,0	822	46	520	240	417	276	362	197	212	81,6	735	106	567	143	400
I3	69,2	722	242,4	412	358,4	558	400	250	560	357	257,2	583	562	767	803	137																
Ci3																	400,0	277	264	91					640	65						
	(0,30)		(2,30)														105,0	1.055														
R4	97,0	515	122,0	819																												
L4																																
Cu4	63,0	793	128,0	778													150,0	740														
D4	51,5	970	132,4	755													137,5	807														
I4	69,5	719	189,0	529																												
Ci4																	400,0	227														
	(5,15)																															
R5	49,0	1.020																														
L5																																
Cu5	63,0	793																														
D5	60,5	826																														
I5	68,0	735																														
Ci5																																
	(5,00)																															
R6	28,0	1.780																														
L6																																
Cu6	62,4	800																														
D6	63,5	787																														
I6	65,0	770																														
Ci6																																

*1.—R = Rumen; L=Librillo; Cu=Cunjar; D=Duodeno; I=Ileo; Ci=Ciego.
 El número denota el orden en que se tomaron las muestras; las muestras que llevan el mismo número se recogieron dentro de un período de 15 minutos como máximo.
 *2.—Período transcurrido entre la adición del PEG en el rumen y la toma de las muestras (horas, minutos).

En las Tablas XXI, XXII y XXIII y en la Figura V se resumen los resultados obtenidos. Como un ejemplo representativo se exponen detalladamente los experimentos números 7 y 8 en las Tablas XXIV y XXV.

En los experimentos números 7, 9 y 10 se determinó la cantidad de PEG excretada en las heces diariamente, que resultó ser un $98,0 \pm 2,5 \%$ de la dosis infundida.

C) Volumen del rumen.

El volumen ruminal se determinó en los animales números 1, 2 y 3 alimentados con la dieta de heno y maíz y en los animales números 1 y 2 alimentados con alfalfa granulada.

Se tomó la primera muestra del contenido ruminal aproximadamente una hora después de la comida de la mañana a continuación se introdujeron en el rumen unos 12 ó 13 gr. de PEG disueltos en 100 ml. de agua, mediante una jeringuilla que llevaba adosado un tubo de plástico. Durante las 5 ó 6 horas siguientes, se tomaron muestras del contenido ruminal cada 30 minutos y se determinó el contenido en PEG de todas ellas. El log. 10 del valor obtenido para cada muestra, se representó en una gráfica con relación al tiempo transcurrido desde la introducción del PEG en el rumen hasta el momento en que fue tomada dicha muestra. De esta forma se calculó, por extrapolación, la concentración del marcador en el rumen en el momento de su introducción.

El volumen ruminal se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$C(V + v) - C_0 V = W \quad (\text{Mangan y Wright, 1968})$$

donde:

V = Volumen del rumen

v = Volumen de la solución añadida al rumen (100 ml.)

W = Cantidad de marcador introducida en el rumen

C_0 = Concentración del marcador en el rumen antes de su introducción.

C = Concentración del marcador en el rumen en el momento de su introducción (estimada por extrapolación).

El volumen del rumen se determinó dos veces en cada oveja, los valores obtenidos fueron:

Con la dieta de heno y maíz

Oveja n.º 1 = $5,6 \pm 0,2$ litros

Oveja n.º 2 = $6,1 \pm 0,7$ litros

Oveja n.º 3 = $6,3 \pm 0,5$ litros

Con la dieta de alfalfa granulada

Oveja n.º 1 = $3,8 \pm 0,3$ litros

Oveja n.º 2 = $4,2 \pm 0,3$ litros

TABLA XX
Flujo del contenido del aparato digestivo de óvidos

Animal N.º	Dieta*	Exper. N.º	Flujo del contenido gastro-intestinal (litros/24 horas)*					
			R	L	Cu	D	I	Cl
1	h-m/2	1	24,7 ± 11,2		19,6 ± 0,8	20,9 ± 2,8	20,8 ± 4,9	
1	"	2	19,6 ± 5,0		23,6 ± 3,7	25,3 ± 6,0	14,4 ± 1,8	
1	"	3	12,6 ± 0,9		13,2 ± 2,3	16,0 ± 3,0	15,1 ± 3,6	
2	"	5	7,9 ± 0,5			10,2 ± 1,5	8,0 ± 0,5	
2	"	6	8,2 ± 0,8			8,7 ± 1,0	13,8 ± 0,0	
2	"	7	12,0 ± 1,7			10,9 ± 0,1	7,0 ± 0,5	
3	"	9	26,1 ± 3,4		21,2 ± 3,4	22,4 ± 3,3		6,8 ± 0,4
3	"	10	12,2 ± 0,2		11,2 ± 0,2	12,5 ± 0,4		2,7 ± 0,7
7	"	11	8,6 ± 0,5			9,5 ± 0,9		
7	"	12	8,6 ± 0,6			8,9 ± 1,0		
6	"	13	6,5 ± 1,9			7,4 ± 2,0		1,7 ± 0,2
1	a/2	4	6,5 ± 0,5		7,0 ± 0,8	7,4 ± 0,9	6,0 ± 0,5	
2	"	8	4,9 ± 0,5		6,3 ± 0,7	7,5 ± 0,5	3,7 ± 0,7	
5	"	16	5,6 ± 0,5	5,8 ± 0,3		9,7 ± 0,2		
5	h-m/12	14	19,2 ± 1,5	14,9 ± 0,8		18,8 ± 1,4		
5	a/12	15	8,4 ± 0,3	8,3 ± 0,9		13,5 ± 0,0		

* Se utilizan las mismas abreviaturas que en la Tabla XVIII

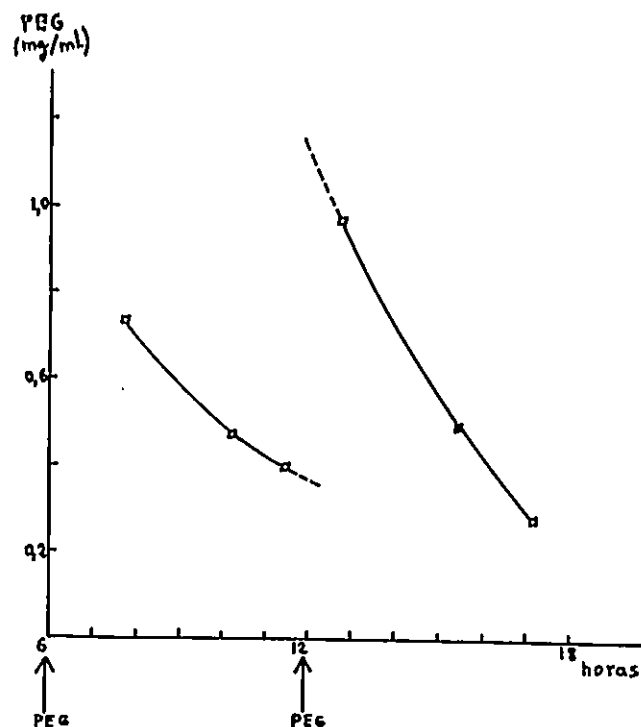


FIGURA IV

Experimento núm. 1 (véase Tabla XVIII).

Concentración de PEG en el contenido ruminal. Una flecha vertical indica la introducción de la correspondiente dosis de PEG en el rumen.

El paso del fluido ruminal se calculó de la forma siguiente:

Según la gráfica, la concentración de PEG inmediatamente antes de la introducción de la segunda dosis fue de 0,37 mg/ml. Inmediatamente después de dicha introducción la concentración de PEG fue de 1,15 mg/ml. Por consiguiente el incremento en la concentración de PEG causado por la adición de la segunda dosis (3 gr.) fue de 0,76 gr./ml. (1,15 - 0,37).

De acuerdo con estas cifras el volumen del rumen es de 3.950 ml. (3 g/0,76 mg/ml).

Tiempo transcurrido desde la adición de la segunda dosis (horas)	Concentración de PEG en el rumen (mg/ml)	Pérdida de PEG en una hora		Concentración de PEG en el contenido ruminal**	Flujo (ml/h)
		mg/ml	mg/VR**		
0	1,13	—	—	—	—
1	0,92	0,21	829,5	1,02	812
2	0,75	0,17	671,5	0,83	809
3	0,57	0,18	711,0	0,66	1.075
4	0,42	0,15	592,5	0,49	1.209
5	0,30	0,12	474,0	0,36	1.315

* VR = Volumen ruminal.

** Valor medio entre la concentración de PEG en la hora indicada y en la inmediata anterior.

TABLA XXI
Concentración de nitrógeno nucleínico en materia seca en el contenido del aparato digestivo de óvidos

Dieta*	Exp. n.º	Animal n.º	Peso vivo (kg)	Materia seca (%)					
				R	L	Cu	D	I	CI
h-m/2	1	1	60	5,9 ± 1,7		7,7 ± 0,6	6,8 ± 0,3	9,5 ± 0,5	
	2	1	55	5,4 ± 0,5		7,7 ± 0,2	6,9 ± 0,4	9,1 ± 0,0	
	3	1	52	4,8 ± 0,7		7,1 ± 0,8	6,5 ± 0,6	8,8 ± 1,1	
	5	2	50	3,5 ± 0,4			6,2 ± 0,2	7,6 ± 1,2	
	6	2	50	6,4 ± 2,4			4,1 ± 1,0	9,4 ± 0,2	
	7	2	55	6,1 ± 1,5			5,0 ± 0,7	8,6 ± 1,1	
	9	3	58	4,5 ± 0,7		7,5 ± 0,4	6,3 ± 1,5		12,2 ± 0,4
	10	3	56	5,0 ± 0,5		5,0 ± 0,8	4,3 ± 0,5		11,6 ± 0,4
	11	7	44	2,9 ± 0,1			5,2 ± 0,3		
	12	44	44	4,5 ± 1,1			4,9 ± 0,9		
	13	6	40	6,1 ± 2,4			4,5 ± 0,2		12,8 ± 1,0
		Media + S. D.		5,0 ± 1,1		6,9 ± 1,1	5,5 ± 1,0	8,8 ± 0,6	12,2 ± 0,6
a/2	4	1	70	11,3 ± 0,6		10,0 ± 0,8	8,5 ± 0,9	13,4 ± 0,9	
*	8	2	56	11,2 ± 0,5		9,5 ± 0,6	7,8 ± 0,4	8,1 ± 1,4	
	16	5	50	10,5 ± 1,0	6,7 ± 0,2	6,3 ± 0,1			
		Media + S. D.		11,0 ± 0,4	6,7 ± 0,2	9,7 ± 0,3	7,5 ± 1,1	10,7 ± 3,7	
h-m/12	14	5	50	7,1 ± 0,3	4,5 ± 0,1		7,9 ± 0,1		
a/12	15	5	50	11,5 ± 0,6	7,9 ± 1,0		6,2 ± 0,5		

TABLA XXI (Continuación)

Dieta	Experimento n.º	N nucleínico (mg./100 ml.)					
		R	L	Cu	D	I	Cl
h-m/2	1	9,5 ± 3,9		12,4 ± 2,2	11,1 ± 4,5	4,3 ± 0,6	
»	2	12,7 ± 2,0		14,3 ± 1,4	12,8 ± 1,7	5,4 ± 0,9	
»	3	11,0 ± 1,6		15,0 ± 1,2	12,8 ± 0,6	4,0 ± 0,2	
»	5	10,2 ± 1,1			7,6 ± 0,6	3,4 ± 0,8	
»	6	30,3 ± 2,5			9,5 ± 1,2	2,4 ± 0,1	
»	7	21,9 ± 8,2			19,1 ± 3,4	9,0 ± 1,6	
»	9	7,9 ± 0,5		8,6 ± 0,5	9,6 ± 1,1		9,0 ± 0,9
»	10	8,7 ± 0,2		9,3 ± 0,2	9,9 ± 0,2		11,4 ± 0,9
»	11	8,8 ± 0,5			10,5 ± 0,5		
»	12	24,8 ± 3,1			24,3 ± 1,1		
»	13	15,1 ± 1,9			11,8 ± 0,2		16,9 ± 1,6
»	Media ± S. D.	14,6 ± 7,6		11,9 ± 2,9	12,6 ± 4,8	4,7 ± 2,3	12,4 ± 4,0
a/2	4	42,8 ± 5,6		40,9 ± 1,8	38,4 ± 2,7	11,1 ± 0,3	
»	8	49,4 ± 17,2		38,3 ± 8,3	34,6 ± 8,9	18,8 ± 6,7	
»	16	38,7 ± 0,5	31,1 ± 3,8		27,9 ± 1,0		
»	Media ± S. D.	43,6 ± 5,3	31,1 ± 3,8	39,6 ± 1,8	33,6 ± 5,3	14,9 ± 5,4	
h-m/12	14	25,0 ± 2,6	19,2 ± 1,4		28,0 ± 0,2		
a/12	15	38,7 ± 3,3	26,4 ± 4,2		19,9 ± 1,7		

TABLA XXI (continuación)

Dieta	Experimento n.º	Nucleínico (mg/100 g M. S.)					
		R	L	Cu	D	I	Cl
h-m/2	1	227,3 ± 177,7		179,6 ± 47,7	206,6 ± 59,9	50,2 ± 7,0	
»	2	235,7 ± 12,1		187,1 ± 24,0	184,4 ± 25,2	59,3 ± 10,6	
»	3	238,5 ± 80,9		214,9 ± 39,9	210,4 ± 49,0	46,7 ± 6,1	
»	5	286,8 ± 57,0			122,6 ± 5,5	46,9 ± 19,5	
»	6	506,6 ± 139,1			245,1 ± 73,0	42,0 ± 1,3	
»	7	336,6 ± 75,3			393,8 ± 135,4	105,3 ± 14,2	
»	9	179,1 ± 38,0		114,6 ± 11,9	162,3 ± 58,6		74,1 ± 9,8
»	10	173,7 ± 15,9		189,9 ± 33,3	231,0 ± 27,3		98,3 ± 9,2
»	11	297,4 ± 27,7			199,3 ± 4,7		
»	12	582,4 ± 206,9			500,1 ± 78,8		
»	13	264,6 ± 66,0			258,8 ± 16,7		131,8 ± 2,8
»	Media ± S. D.	304,4 ± 130,6		177,1 ± 37,4	246,7 ± 108,5	49,0 ± 16,4	101,3 ± 30,0
a/2	4	371,4 ± 31,4		409,3 ± 46,8	452,3 ± 39,4	82,9 ± 8,1	
»	8	437,9 ± 135,9		398,1 ± 61,1	350,6 ± 79,2	227,8 ± 52,5	
»	16	368,6 ± 37,3	463,5 ± 71,5		440,8 ± 24,9		
»	Media ± S. D.	392,6 ± 463,5	463,5 ± 71,5	403,7 ± 7,9	447,9 ± 6,2	155,3 ± 102,4	
h-m/12	14	351,2 ± 24,6	420,6 ± 35,8		262,4 ± 0,4		
a/12	15	335,8 ± 46,2	334,0 ± 38,7		322,5 ± 12,3		

* Se utilizan las mismas abreviaturas que en la tabla XVIII.

TABLA XXI (continuación)

Dieta	Experimento n.º	N nucleínico (% del N total)					Ci
		R	L	Cu	D	I	
h-m/2	1	6,4 ± 2,9		9,2 ± 2,0	7,1 ± 2,1	2,5 ± 0,3	
»	2	8,1 ± 1,1		9,4 ± 1,7	6,5 ± 0,9	3,5 ± 0,3	
»	3	8,1 ± 0,6		9,5 ± 0,4	7,8 ± 0,9	2,7 ± 0,1	
»	5	10,4 ± 0,3			3,0 ± 0,5	2,0 ± 0,2	
»	6	9,8 ± 0,1			3,8 ± 0,8	2,2 ± 0,2	
»	7	6,0 ± 1,3			5,2 ± 0,2	2,2 ± 0,5	
»	9	4,4 ± 1,9		5,2 ± 0,1	5,6 ± 0,6		5,5 ± 0,6
»	10	3,5 ± 0,2		4,4 ± 0,0	5,2 ± 0,4		6,9 ± 0,5
»	11	9,1 ± 2,2			7,1 ± 1,7		
»	12	9,4 ± 0,5			8,2 ± 0,7		7,9 ± 0,7
»	13	5,2 ± 0,6			9,4 ± 0,9		6,7 ± 1,2
»	Media ± S. D.	7,3 ± 2,3		7,5 ± 2,4	6,2 ± 1,9	2,5 ± 0,5	
a/2	4	9,8 ± 0,4		8,7 ± 0,9	9,0 ± 1,3	2,7 ± 0,2	
»	8	10,2 ± 0,6		9,4 ± 0,7	7,1 ± 1,0	3,3 ± 0,6	
»	16	10,8 ± 1,0	8,2 ± 1,4		9,2 ± 0,2		
»	Media ± S. D.	10,2 ± 0,5	8,2 ± 1,4	9,0 ± 0,4	8,5 ± 1,2	3,0 ± 0,4	
h-m/12	14	6,3 ± 0,7	3,6 ± 0,2		3,3 ± 0,4		
a/12	15	12,9 ± 1,2	8,0 ± 0,9		8,7 ± 1,0		

TABLA XXII

Flujo del nitrógeno nucleínico a lo largo del tracto digestivo de óvidos

Dieta*	Exp. n.º	Animal n.º	Peso vivo Kg	Flujo del nitrógeno nucleínico (g/ 24 horas)*					Ci
				R	L	Cu	D	I	
h-m/2	1	1	60	2,1 ± 0,8		2,4 ± 0,5	2,3 ± 1,1	0,8 ± 0,3	
»	2	1	55	2,5 ± 0,7		3,3 ± 0,2	3,7 ± 0,2	0,6 ± 0,0	
»	3	1	52	1,3 ± 0,3		1,9 ± 0,5	2,0 ± 0,4	0,5 ± 0,1	
»	5	2	50	0,8 ± 0,1			0,6 ± 0,2	0,2 ± 0,0	
»	6	2	50	2,4 ± 0,1			0,8 ± 0,1	0,5 ± 0,0	
»	7	2	55	2,5 ± 0,5			2,1 ± 0,3	0,6 ± 0,0	
»	9	3	58	2,0 ± 0,3		1,7 ± 0,1	2,1 ± 0,4		0,5 ± 0,0
»	10	3	56	1,0 ± 0,0		1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,1		0,2 ± 0,1
»	11	7	44	0,7 ± 0,1			0,9 ± 0,1		
»	12	7	44	2,1 ± 0,4			2,1 ± 0,2		0,2 ± 0,0
»	13	6	40	0,9 ± 0,1			0,8 ± 0,2		0,3 ± 0,1
»	Media ± S. D.			1,7 ± 0,6		2,0 ± 0,2	1,6 ± 0,8	0,5 ± 0,1	
a/2	4	1	60	2,7 ± 0,3		2,8 ± 0,2	2,7 ± 0,2	0,6 ± 0,0	
»	8	2	56	2,4 ± 0,6		2,4 ± 2,3	2,5 ± 0,5	0,6 ± 0,1	
»	16	5	50	2,1 ± 0,2	1,6 ± 0,2		2,6 ± 0,1		
»	Media ± S. D.			2,4 ± 0,2	1,6 ± 0,2	2,6 ± 0,2	2,6 ± 0,0	0,6 ± 0,0	
h-m/12	14	5	50	4,8 ± 0,7	2,8 ± 0,3		3,8 ± 0,3		
a/12	15	5	50	3,5 ± 0,3	2,1 ± 0,1		2,6 ± 0,2		

* Se utilizan las mismas abreviaturas que en la Tabla XVIII

TABLA XXIII

Nivel y flujo de N nucleínico en óvulos adultos (Resumen de las Tablas XXI y XXII)

Muestra*	M. S. (%)	Nitrógeno nucleínico			
		mg/ 100 ml	mg/ 100 g M. S.	% del N total	Flujo (g/ 24 h)
<i>h-m/2</i>					
R	5,0 ± 1,1	14,6 ± 7,6	304,4 ± 130,6	7,3 ± 2,3	1,7 ± 0,6
L					
Cu	6,9 ± 1,1	11,9 ± 2,9	177,1 ± 37,4	7,5 ± 2,4	2,0 ± 0,2
D	5,5 ± 1,0	12,6 ± 4,8	246,7 ± 108,5	6,2 ± 1,9	1,6 ± 0,8
I	8,8 ± 0,6	4,7 ± 2,3	49,0 ± 6,4	2,5 ± 0,5	0,5 ± 0,1
Ci	12,2 ± 0,6	12,4 ± 4,0	101,3 ± 30,0	6,7 ± 1,2	0,3 ± 0,1
<i>a/2</i>					
R	11,0 ± 0,4	43,6 ± 5,3	392,6 ± 39,2	10,2 ± 0,5	2,4 ± 0,2
L	6,7 ± 0,2	31,1 ± 3,8	463,5 ± 71,5	8,2 ± 1,4	1,6 ± 0,2
Cu	9,7 ± 0,3	39,6 ± 1,8	402,7 ± 7,9	9,0 ± 0,4	2,6 ± 0,2
D	7,5 ± 1,1	33,6 ± 5,3	447,9 ± 6,2	8,5 ± 1,2	2,6 ± 0,0
I	10,7 ± 3,7	14,9 ± 5,4	155,3 ± 102,4	3,0 ± 0,4	0,6 ± 0,0
Ci					
<i>h-m/12</i>					
R	7,1 ± 0,3	25,0 ± 2,6	351,2 ± 24,6	6,3 ± 0,7	4,8 ± 0,7
L	4,5 ± 0,1	19,2 ± 1,4	420,6 ± 35,8	3,6 ± 0,2	2,8 ± 0,3
Cu					
D	7,9 ± 0,1	20,8 ± 0,2	262,4 ± 0,4	3,3 ± 0,4	3,8 ± 0,3
I					
Ci					
<i>a/12</i>					
R	11,5 ± 0,6	37,7 ± 3,3	335,8 ± 46,2	12,9 ± 1,2	3,5 ± 0,3
L	7,9 ± 1,0	26,4 ± 4,2	334,0 ± 38,7	8,0 ± 0,9	2,1 ± 0,1
Cu					
D	6,2 ± 0,5	19,9 ± 1,7	332,5 ± 12,3	8,7 ± 1,0	2,6 ± 0,2
I					
Ci					

* Se utilizan las mismas abreviaturas que en la tabla XVIII

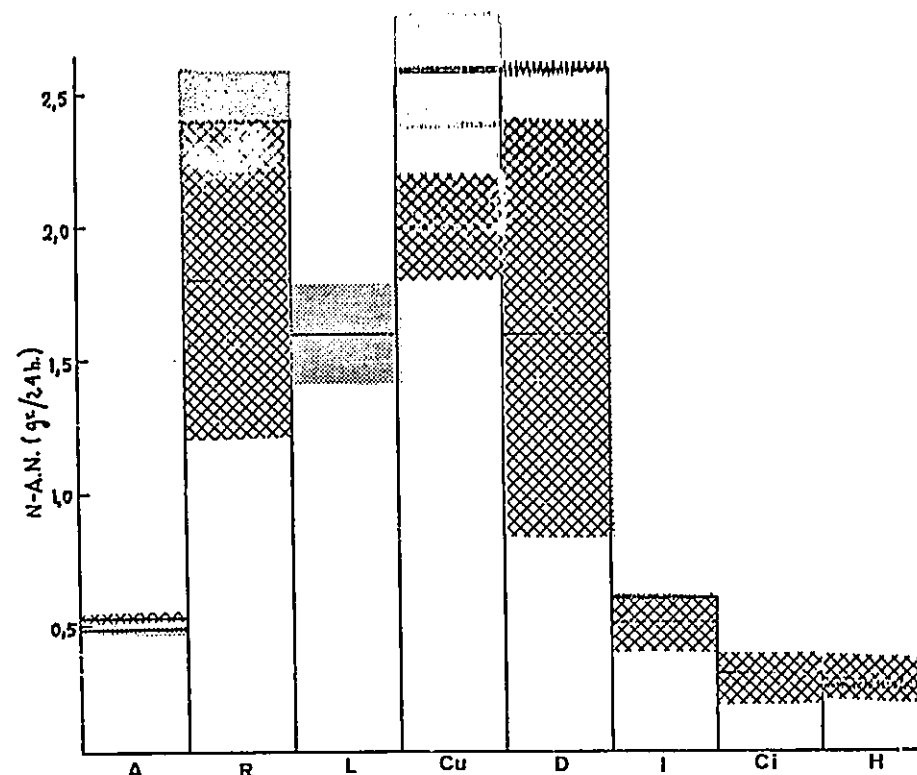




FIGURA V

Paso de nitrógeno nucleico a lo largo del tracto digestivo

 = media y desviación standard para la dieta de heno y maíz
 = media y desviación standard para la dieta de alfalfa granulada

A = alimento; R = rumen; L = librillo; Cu = cuajar;
 D = duodeno; I = íleo; Ci = ciego; H = heces.

TABLA XXIV

Experimento n.º 7

Durante dos días consecutivos se introdujo el marcador (PEG) en el rumen de la oveja n.º 2 mantenida con la dieta de heno y maíz. El PEG se administró en 4 dosis diarias de 9 gr. introducidas mediante cápsulas de gelatina a las 6, 12, 18 y 24 horas. En el segundo día se tomaron muestras del rumen (R), duodeno (D), e íleo (I), a las 8 de la mañana (R1, D1 e I1), a las 10 de la mañana (R2, D2 e I2) y a las 4 de la tarde (R3, D3 e I3).

Muestra	M. S. (%)	mg/100 ml.					en 100 g M. S.		N-A. N. % del N total)
		PEG	N total	N-DNA	N-RNA	N-A. N.	N total (g)	N-A. N. (mg)	
R1	4,3	268	266,0	5,3	9,6	14,9	6,2	346,5	5,6
D1	5,6	327	344,0	4,2	13,0	17,2	6,1	307,1	5,0
I1	7,3	496	282,7	3,9	4,3	8,2	3,8	112,3	2,9
R2	7,1	360	413,3	13,0	18,0	31,0	5,8	436,6	7,5
D2	5,3	327	312,7	6,3	10,9	17,2	5,9	324,5	5,5
I2	9,0	479	400,0	3,5	4,5	8,0	5,0	88,9	2,0
R3	6,9	286	404,0	5,5	14,3	19,8	5,8	286,9	4,9
D3	4,2	333	435,8	9,0	14,1	23,1	14,2	550,0	5,3
I3	9,5	562	573,6	4,5	6,4	10,9	6,0	114,7	1,9

TABLA XXIV (continuación)

Muestra	RNA/DNA	DNA/PEG (× 100)	RNA/PEG (× 100)	Flujo gastro-intestinal		Flujo de N-A. N. (g/24 h)
				ml./hora	litros/24 h	
R1	1,8	197	358	558	13,4	2,0
D1	3,0	128	397	459	11,0	1,9
I1	1,1	78	86	304	7,3	0,6
R2	1,3	361	500	417	10,0	3,1
D2	1,7	192	333	459	11,0	1,9
I2	1,2	73	93	313	7,5	0,6
R3	2,6	192	500	525	12,6	2,5
D3	1,5	270	423	450	10,8	2,5
I3	1,4	80	113	267	6,4	0,7

TABLA XXIV

Experimento n.º 7 (Resumen)

Muestra (media ± S. D.)	R	D	I
M. S. (%)	6,1 ± 1,5	5,0 ± 0,7	8,6 ± 1,1
N-A. N. (mg/100 ml)	21,9 ± 8,2	19,1 ± 3,4	9,0 ± 1,6
N-A. N. (mg/100 M. S.)	356,6 ± 73,3	393,8 ± 135,4	105,3 ± 14,2
N-A. N. (% del N total)	6,0 ± 1,3	5,2 ± 0,2	2,2 ± 0,5
Flujo gastro-intestinal (l/24 horas)	12,0 ± 1,7	10,9 ± 0,1	7,0 ± 0,5
Flujo de N-A. N. (g/24 horas)	2,5 ± 0,5	2,1 ± 0,3	0,6 ± 0,0
DNA/PEG (× 100)	250,0 ± 96,1	196,6 ± 71,1	77,0 ± 3,6
RNA/PEG (× 100)	452,6 ± 81,9	384,3 ± 46,3	97,3 ± 14,0

Digestibilidad aparente

Desde	Hasta	DNA	RNA
R	I	69,2 %	78,5 %
D	I	60,8 %	74,6 %

TABLA XXV

Experimento N.º 8

Durante dos días consecutivos se introdujo el marcador en el rumen de la oveja n.º 2 mantenida con la dieta de alfalfa granulada. El PEG se administró en 4 dosis diarias de 9 gr. introducidas mediante cápsulas de gelatina a las 6, 12, 18 y 24 horas. En el segundo día se tomaron muestras del rumen (R), del cuajar (Cu), duodeno (D) e íleo (I), a las 8 de la mañana (R1, Cu1, D1 e I1), a las 10 de la mañana (R2, Cu2, D2 e I2) y a las 3 de la tarde (R3, Cu3, D3, e I3).

Muestra	M. S. (%)	mg/100 ml.					en 100 g M. S.		N-A. N. (% del N total)
		PEG	N total	N-DNA	N-RNA	N-A. N.	N total (g)	N-A. N. (mg)	
R1	11,4	667	472,4	18,0	28,3	46,3	4,1	406,1	9,8
Cu1	10,2	656	491,6	19,0	28,2	47,2	4,8	462,7	9,6
D1	8,2	514	610,1	13,2	23,8	36,0	7,4	439,0	5,9
I1	8,5	120	776,7	9,9	13,4	23,3	9,1	274,1	3,0
R2	11,6	820	681,0	24,5	43,6	68,1	5,8	587,0	10,0
Cu2	9,5	514	371,1	10,6	26,5	37,1	3,9	390,5	10,1
D2	8,0	514	548,7	18,6	24,2	42,8	6,8	535,0	7,0
I2	9,3	100	765,0	10,0	12,2	22,2	8,2	238,7	2,9
R3	10,6	722	309,1	9,8	24,2	34,0	2,9	320,8	11,0
Cu3	9,6	554	352,8	10,1	20,6	30,7	3,9	341,1	8,7
D3	7,4	450	328,9	9,0	16,0	25,0	4,4	337,8	7,6
I3	6,5	803	270,7	4,2	6,9	11,1	4,1	170,7	4,1

TABLA XXV (continuación)

Muestra	RNA/DNA	DNA/PEG (× 100)	RNA/PEG (× 100)	Flujo gastro-intestinal		Flujo de N.A. N. (g/24 h)
				ml./hora	litros/24 h	
RI	1,5	269	424	225	5,4	2,5
Cu ₁	1,4	289	429	229	5,5	2,6
D1	1,8	256	463	292	7,5	2,7
I1	1,3	82	111	125	3,0	0,7
R2	1,7	298	531	183	4,4	3,0
Cu2	2,5	206	515	292	7,0	2,6
D2	1,3	361	470	292	7,0	3,0
I2	1,2	100	122	150	3,6	0,8
R3	2,4	135	335	208	5,0	1,7
Cu3	2,0	182	371	271	6,5	2,0
D3	1,7	200	355	334	8,0	2,0
I3	1,6	52	85	187	4,5	0,5

TABLA XXV

Experimento N.º 8 (Resumen)

Muestra (media ± S. D.)	R	Cu	D	I
M. S. (%)	11,2 ± 0,5	9,5 ± 0,6	7,8 ± 0,4	8,1 ± 1,4
N.A. N. (mg/100 ml.)	49,4 ± 17,2	38,3 ± 8,3	34,6 ± 8,9	18,9 ± 6,7
N.A. N. (mg/100 M. S.)	437,9 ± 135,9	398,1 ± 61,1	450,6 ± 79,2	227,8 ± 52,5
N.A. N. (% del N total)	10,2 ± 0,6	9,4 ± 0,7	7,1 ± 1,0	3,3 ± 0,6
Flujo gastro-intestinal (litros/24 horas)	4,9 ± 0,5	6,3 ± 0,7	7,5 ± 0,5	3,7 ± 0,7
Flujo de N.A. N. (g/24 h)	2,4 ± 0,6	2,4 ± 0,3	2,5 ± 0,5	0,6 ± 0,1
DNA/PEG (× 100)	234,0 ± 86,9	225,6 ± 56,1	272,3 ± 81,7	78,0 ± 24,2
RNA/PEG (× 100)	430,0 ± 98,1	438,3 ± 72,4	429,3 ± 64,4	106,0 ± 19,0

Digestibilidad aparente

Desde	Hasta	DNA	RNA
R	I	66,6 %	75,3 %
Cu	I	65,4 %	75,8 %
D	I	65,6 %	75,3 %

IV.II. Corderos.

Se suministró PEG con el agua de bebida a los corderos del grupo «a». Por la cantidad de agua bebida, se calculó que ingirieron diariamente 23 gr. de PEG de los que se recuperó un 95,0 % en las heces.

El flujo del líquido del rumen se calculó como en el caso de los óvidos adultos, siendo los valores obtenidos de 4,0 litros por 24 horas para los corderos criados de forma convencional y de 4,5 litros por 24 horas para los SPF, o bien 3,8 y 4,2 litros, respectivamente, si se corrigen los valores obtenidos de acuerdo con la cantidad del marcador encontrada en las heces, expresada como porcentaje de la cantidad infundida.

IV.III. Conejos.

Se suministró PEG con el agua de bebida a seis conejos durante 3 días, estimándose que la ingestión diaria del marcador fue de 450 mg.

Tres de los seis conejos recibieron un suplemento diario de 2 gr. de RNA en su ración. Al cabo de los 3 días se sacrificaron los animales, se recogieron conjuntamente los contenidos de los estómagos, intestinos delgados y ciegos de cada grupo de animales mantenidos con la misma dieta y se determinó su contenido en PEG. Los resultados figuran en la Tabla XXVI.

DISCUSION

Se han realizado numerosos estudios sobre el flujo del contenido del aparato digestivo y sobre la capacidad de diversos órganos y tramos de éste, principalmente del rumen. Las sustancias de referencia utilizadas han sido muy diversas.

Es sabido que el PEG no se encuentra en condiciones normales en el contenido del aparato digestivo, no es degradado ni absorbido y tampoco afecta a los proce-

TABLA XXVI

Flujo del contenido del estómago, del intestino delgado y del ciego de los conejos

Procedencia de la muestra	Dieta*	PEG (mg/100 ml)	M. S. (%)	Flujo (ml./24 h)
Estómago	g. c.	177	16,5	254
Intestino delgado	g. c.	640	10,0	70
Ciego	g. c.	1.600	22,9	28
Estómago	g. c. + RNA	290	12,8	155
Intestino delgado	g. c. + RNA	210	8,7	24
Ciego	g. c. + RNA	1.300	24,5	34

* g. c. = gránulos comerciales

g. c. + RNA = gránulos comerciales suplementados con dos gramos diarios de RNA.

tos digestivos normales. Debido a su solubilidad en agua, se ha utilizado muy frecuentemente para medir el volumen del rumen y el paso de las sustancias solubles en agua a través del tracto digestivo (SPERMIN y col., 1953).

Así pues, al utilizar PEG como marcador para medir el paso de los A. N. por el tracto digestivo, se supone que dichos ácidos fluyen a la misma velocidad que el componente líquido. Esta suposición puede aceptarse al recordar que los A. N. del contenido del aparato digestivo son principalmente de origen microbiano y pueden fluir por lo tanto a la misma velocidad que el líquido, pero los microorganismos asociados a partículas groseras, lo harán más lentamente, introduciendo así un error en los cálculos.

En un estudio comparativo entre el PEG y el Cr_2O_3 , CORBETT y col. (1959) observaron que el primero por su asociación con el agua, desaparecía del rumen-retículo de bóvidos adultos más rápidamente que el segundo.

Así pues, un indicador soluble en agua mide el flujo de la fase líquida más bien que el de todo el contenido del aparato digestivo. La determinación del PEG en el curso de este trabajo se realizó sobre el sobrenadante obtenido al centrifugar el contenido del aparato digestivo a 2.445 g, así pues, el flujo calculado a partir de los resultados experimentales es menor que el flujo real pero no se determinó en porcentaje de materia seca en dicho sobrenadante ni se corrigió, por lo tanto, el pequeño error así introducido.

La utilidad del PEG como marcador ha sido reconocida por muchos autores, pero también existen informes de ciertos inconvenientes encontrados. Así, SINHA y col. (1970) demostraron que el PEG, por ser eliminado con la fase líquida, no puede ser utilizado como marcador en estudios sobre la digestión de la materia seca. CLARK y col. (1972), investigando el flujo ruminal de óvidos alimentados con una dieta de heno de alfalfa, encontraron que el PEG era satisfactorio como marcador, pero cuando se utilizaba una dieta que contenía un 40 % de cáscara de semilla de algodón, la recuperación del PEG añadido era solamente del 20 % o menos. En estudios posteriores los mismos autores determinaron que un gramo de cáscara de semilla de algodón absorbe «in vitro» unos 109 mg. de PEG.

Según SMITH (1958), existen en el duodeno de terneros ciertas sustancias (quizá proteínas degradadas, que se precipitan con el PEG e interfieren en su determinación por lo que se obtienen resultados más altos que los valores reales. Lo contrario sucede en la porción distal del intestino delgado, donde sólo un 50 % del PEG añadido pudo ser recuperado. En posteriores trabajos (1962), el mismo autor informó de que el PEG es un marcador satisfactorio para estudiar la digestibilidad hasta el intestino delgado pero no la digestibilidad en el intestino grueso, donde solamente podía ser recuperado un 89 % del PEG añadido.

En la Tabla XVI puede verse que la recuperación del PEG añadido al contenido del íleo y del ciego fue, respectivamente, del 85 y 90 %. Se desconoce la razón de este bajo porcentaje de recuperación, pero es obvio que introduce un error apre-

ciable en la determinación del flujo a través de estos órganos. Otra posible fuente de error es la distribución desigual del marcador, como puede ocurrir, por ejemplo, en el caso del contenido ruminal. CZERNIAWSKY y BRECKENRIDGE (1969), estudiaron la distribución del PEG en suspensiones de partículas de alimentos, especialmente de pulpa de remolacha azucarera y de hierba deshidratada granulada. Comprobaron que el marcador no se difundió uniformemente en la fase acuosa ya que estaba ausente de gran parte del agua absorbida por las partículas. Posiblemente, el marcador estará distribuido más homogéneamente en suspensiones, tal como el contenido del aparato digestivo, cuyas partículas se encuentran más finamente divididas, pero en órganos como el rumen, la distribución no es nunca completamente homogénea; se sabe que, por ejemplo, la concentración de Cr_2O_3 en el contenido ruminal varía de una parte a otra e incluso los ácidos grasos volátiles en disolución tienden a presentarse en menor concentración en el retículo que en el rumen (PHILLIPSON, comunicación personal).

La toma de muestras de animales canulados en lugar de «post mortem», tiene la ventaja de que se evita el error introducido por la descamación del epitelio, aparte de la ventaja económica. Además, las funciones fisiológicas de los animales permanecen prácticamente normales (HARRIS y PHILLIPSON, 1962).

El flujo del contenido del aparato digestivo de los rumiantes ha sido ampliamente estudiado (PHILLIPSON, 1952; HOGAN y PHILLIPSON, 1960; SINGLETON, 1961; BOUCKAERT y OYAERT, 1954; HARRIS y PHILLIPSON, 1962; MASSON y PHILLIPSON, 1952; BRUCE y col., 1966; COOMBE y KAY, 1965; CLARKE y col. 1966; HARRISON y HILL, 1962; OYAERT y BOUCKAERT, 1961; PHILLIPSON y ASH, 1965; THOMPSON y LAMMING, 1972; KLOOSTER y ROGERS, 1969; WESTON y HOGAN, 1967).

Se sabe que dicho flujo es muy variable y que depende de numerosos factores: Por ejemplo, los ácidos grasos producen una secreción del cuajar (PHILLIPSON y ASH, 1965), la cantidad de alimento ingerido y el nivel de fermentación del mismo en el rumen influyen en el flujo del librillo. HALE y col., (1947 a y b) demostraron que los nutrientes más solubles desaparecen del rumen antes de transcurridas seis horas de la ingestión del alimento; la mayor parte de la digestión ruminal tiene lugar antes de las 12 horas.

Como regla general, a mayor nivel de ingestión corresponde un mayor flujo del contenido del aparato digestivo y una menor digestibilidad de la energía del alimento.

HARRISON y HILL (1962) observaron que al administrar la ración diaria de una sola vez, el flujo a través del cuajar y del duodeno de óvidos era respectivamente de 273 y 263 ml./hora. Estos valores se transformaban en 785 y 864 ml./hora cuando la misma ración se administraba en tres tomas. Igualmente, THOMPSON y LAMMING (1972) compararon el flujo del cuajar de óvidos cuya dieta era administrada en una o en dos tomas diarias y observaron que era mayor y más regular en el segundo caso.

Según CASTLE (1956 a y b), en las onabras la retención media de la digesta no depende del peso del animal sino que está directamente relacionada con la cantidad de alimento ingerido, expresado en gramos de materia seca por kilogramo de peso vivo. En los animales lactantes el flujo de la digesta aumenta con la edad del animal hasta el momento del destete a partir del cual, el flujo permanece relativamente constante.

Las características físicas de la dieta influyen en la velocidad del paso del contenido del aparato digestivo, así como en la naturaleza e intensidad de la fermentación microbiana y en el trabajo mecánico necesario para la aprehensión, masticación y rumia. Según BLAXTER y GRAHAM (1956) tanto estos factores como la composición química del alimento tienen importancia en la determinación del valor nutritivo.

WESTON y HOGAN (1967) administraron alimentos fibrosos, troceados o molidos a óvidos adultos y observaron el efecto que estos alimentos tenían sobre el volumen del rumen y el flujo del rumen y del cuajar. En sus experimentos administraron el alimento cada tres horas y observaron que el flujo era siempre mayor con el alimento troceado; la disminución experimentada en el flujo al administrar el alimento molido, en el caso de estar constituido éste por heno de trigo, iba acompañada de una disminución del volumen ruminal. Al aumentar la ingestión de alimento molido, aumentaba también el flujo.

Sin embargo, THOMPSON y LAMMING (1972) comprobaron que el tamaño de las partículas de los alimentos fibrosos de la dieta no influye en el paso diario de materia seca al cuajar, pero la cantidad de almidón que llega diariamente al duodeno es superior cuando la dieta contiene paja larga o troceada que cuando la paja está molida.

HYDEN (1961) estudió la distribución de PEG en las distintas fracciones ruminales. En su trabajo llegó a la conclusión de que al determinar el volumen del rumen por medio del PEG, el valor obtenido representa aproximadamente el 95 % del valor real; este autor determinó en el rumen un valor medio de 4,5 litros de volumen y 300 ml. de flujo en óvidos de 50 kg. de peso; atribuye las variaciones diurnas encontradas en el flujo a incrementos en la salivación, a la toma de muestras, etc. ALEXANDER (1969) considera que el volumen ruminal determinado mediante el PEG representa aproximadamente el 80 % del volumen real.

HARRIS y PHILLIPSON (1962) observaron que el paso del contenido del cuajar al duodeno se ajusta a un esquema que es dependiente de la ingestión de alimentos y del tiempo que el animal dedica a la rumia. Los animales recibían alimentos por la mañana y por la tarde; el flujo disminuía inmediatamente después de cada comida para aumentar a continuación hasta la comida siguiente; así pues, los valores máximos del flujo de digesta ocurrían antes de las comidas, siendo mayor el de la mañana que el de la tarde. Señalan los autores que, debido a estas variaciones, no se puede considerar representativo de las 24 horas del día el flujo determinado en

períodos de unas pocas horas. Considerando sólo los valores obtenidos desde las 8 de la mañana hasta las 8 de la tarde el flujo, según sus resultados, sería de unos 431 ml./hora mientras que el valor medio para las 24 horas del flujo que pasa al duodeno es de 416 ml./hora.

En nuestro trabajo se ha determinado que el volumen ruminal de óvidos de unos 60 Kg. de peso era de $6,0 \pm 0,5$ litros cuando la dieta estaba constituida por heno y maíz y de $4,0 \pm 0,6$ litros en óvidos mantenidos con alfalfa granulada.

El flujo diario de A. N. y del contenido del aparato digestivo, representado en las Tablas XX y XXII, se calculó a partir del flujo/hora representado en la Tabla XIX, aceptando que este es representativo de las 24 horas.

Aunque los valores encontrados son muy variables (Tabla XX) se puede llegar a la conclusión de que el paso del fluido a través del rumen, cuajar, duodeno e íleo es mayor con una dieta de heno y maíz (13,4 litros diarios en el rumen) que con una dieta de alfalfa granulada (5,6 litros diarios en el rumen). Así mismo, es mayor cuando el alimento se administra en 12 porciones (19,2 y 8,4 litros para las dietas de heno y maíz y de alfalfa, respectivamente) que cuando se administra en dos porciones diarias (en cuyo caso los valores respectivos son 13,4 y 5,6 litros).

La mayor parte de las cifras publicadas señalan que el flujo en el aparato digestivo de óvidos varía entre 6 y 18 litros/24 h. para el rumen, de 3 a 11 litros/24 h. para el librillo, de 9 a 12 litros/24 h. para el cuajar y de 2 a 7 litros/24 h. para el íleo, según la dieta, forma de administración y peso vivo del animal (PHILLIPSON y ASH, 1965).

En líneas generales, las cifras indicadas fueron obtenidas con animales de menor tamaño que los utilizados en este trabajo, lo cual puede ser la causa de que algunos de los valores obtenidos sean excepcionalmente altos, especialmente los del íleo, cuyo flujo medio, en animales alimentados con heno y maíz dos veces al día es de 13,5 litros/24 h. o bien 11,3 litros/24 h. si se hace una corrección de la primera cifra de acuerdo con el porcentaje de recuperación del PEG añadido al contenido del íleo.

El flujo del N-A.N. ruminal/24 h. no varía apreciablemente con la dieta, pero es mayor cuando ésta se administra en 12 porciones diarias en lugar de dos.

El flujo de N-A. N. del librillo es menor que el del rumen, debido probablemente a que la cantidad de microorganismos que pasan al librillo es mucho menor que la que permanece en el rumen y también a que el porcentaje de materia seca del contenido del librillo, recogido a través de la cánula (4,5 - 7,9 %: Tabla 21), es muy bajo comparado con el del recogido de animales sacrificados (22 %: Boyne y col., 1956).

El flujo de N-A. N. es mayor en el cuajar y duodeno que en el librillo. Aproximadamente, de 1/3 a 1/4 de la cantidad que pasa por el duodeno llega al íleo y al ciego.

Se determinó que los corderos del grupo «a» (Tablas XII y XIII) ingerían

aproximadamente 186 mg. de N-A. N. diarios; excretaban 101 mg. y el flujo diario a través del rumen fue, aproximadamente, de 390-430 mg./24 horas. Según estas cifras, la síntesis de N-A. N. en el rumen equivale a unos 204-224 mg. diarios y la digestibilidad aparente del N-A. N. que abandona el rumen es de aproximadamente el 51 %.

YOSHIDA y KANDATSU (1969) observaron que el Cr_2O_3 administrado a conejos con la dieta llegaba al ciego en tres horas y se excretaba en su mayor parte a las 6-10 horas.

En los experimentos de PICKARD y STEVENS (1972), se utilizaron conejos provistos de cánulas en el íleo terminal, apéndice cecal o colón proximal, a los cuales se administraron 3 marcadores distintos: EDTA marcado con Cr^{51} , PEG marcado con C^{14} y partículas de plástico coloreadas. Los dos primeros, solubles en agua, desaparecían rápidamente del estómago; la velocidad a que las partículas de plástico abandonaban el estómago era inversamente proporcional a su tamaño. Por el contrario, el ciego tendía a acumular los marcadores líquidos y a eliminar rápidamente las partículas. Este hecho puede explicar los bajos valores encontrados para el paso de fluido a través del ciego (28-34 ml./24 horas: Tabla XXVI).

Según los resultados expuestos en las Tablas XV y XXVI, la concentración de N-A. N. en el estómago y en el ciego de los conejos no aumentó al suplementar la dieta con RNA durante 3 días. Se ha calculado que el paso diario de N-A. N. en los conejos es de 45-57 mg. por el estómago, 16 mg. por el intestino delgado y 19-23 mg. por el ciego. Por lo tanto, aproximadamente el 68,5 % del N-A. N. desaparece del estómago y el intestino delgado, mientras que entre éste y el ciego tiene lugar un incremento de aproximadamente el 31 %.

CAPITULO V

DEGRADACION DE LOS ACIDOS NUCLEICOS EN EL APARATO DIGESTIVO DE LOS OVIDOS

En los experimentos descritos en este capítulo se estudió la digestibilidad aparente de los ácidos nucleicos y la desaparición del RNA añadido al contenido ruminal. Los animales utilizados fueron óvidos adultos alimentados con la dieta de heno troceado y maíz en copos.

EXPERIMENTOS Y RESULTADOS

V.I. Incubación del RNA con el contenido ruminal.

A) «In vivo».

1) Durante 4 días consecutivos se introdujeron en el rumen de la oveja núm. 3 de 5 a 8 grs. de RNA en una cápsula de gelatina. La oveja núm. 2 sirvió como testigo. Durante los tres días anteriores al comienzo del experimento, se tomaron muestras de contenido ruminal a las 4 de la tarde. Al comenzar el período experimental se añadía RNA al rumen a las 3 de la tarde y se tomaban las muestras una hora después de la adición con lo que coincidía la hora de recogida de las muestras en ambos casos.

Como puede observarse en la Tabla XXVII no se incrementó la concentración del RNA en el contenido del rumen:

TABLA XXVII

Análisis del contenido ruminal de las ovejas números 2 y 3 recogido durante 7 días consecutivos.

Durante los días 4, 5, 6 y 7 se introdujo RNA en el rumen de la oveja n.º 3 una hora antes de la toma de muestras

Oveja N.º	3	3	2 (control)	2 (control)
Muestras*	R1, R2, R3	R4, R5, R6, R7	R1, R2, R3	R4, R5, R6, R7
M. S. (%)	5,6 ± 0,5	6,0 ± 1,1	4,5 ± 0,3	5,0 ± 0,8
N total (mg/100 ml)	208,6 ± 15,3	223,2 ± 10,0	190,0 ± 19,5	187,7 ± 5,0
N-DNA (mg/100 ml)	3,7 ± 0,2	3,5 ± 0,4	4,0 ± 0,5	4,0 ± 0,8
N-RNA (mg/100 ml)	7,1 ± 0,9	6,2 ± 1,0	7,2 ± 1,0	7,0 ± 1,5
N-A. N. (mg/100 ml)	10,8 ± 1,6	9,8 ± 2,0	11,0 ± 2,1	10,8 ± 2,4
N total (% en M. S.)	3,7 ± 0,1	3,8 ± 0,6	4,4 ± 0,3	4,0 ± 0,4
N-A. N. (mg/100 g M. S.)	183,4 ± 11,5	192,7 ± 15,0	244,0 ± 30,0	217,5 ± 27,3
N-A. N. (% del N total)	5,2 ± 0,7	4,4 ± 1,2	5,5 ± 0,8	5,4 ± 1,0
RNA/DNA	1,6 — 1,8	1,6 — 1,7	1,6 — 1,9	1,2 — 2,0

* R = contenido ruminal. El número indica el día del experimento en que se recogió la muestra.

2) Por medio de una jeringuilla se introdujeron 3 grs. de RNA, disueltos en la menor cantidad posible de agua, en el rumen de la oveja núm. 2 durante 6 días consecutivos. Se tomaron muestras del contenido ruminal antes de la adición del RNA y a intervalos regulares después de dicha adición, tal como se indica en la tabla XXVIII.

Considerando un volumen ruminal de 6 litros, se podía esperar un incremento de 7,5 mg. de N-RNA por cada 100 ml. de contenido ruminal; sin embargo, no se detectó ningún incremento una hora después de la adición.

En un experimento similar, se introdujeron 6 grs. de RNA en una cápsula de

gelatina durante 2 días consecutivos en el rumen del animal núm. 7, recogiendo muestras ruminales a intervalos regulares. De acuerdo con la cantidad añadida, podía esperarse un aumento en la concentración de N-RNA de 15 mg/100 ml.; el máximo incremento detectado fue de 6,5 mg./100 ml. a los 30 minutos de la adición del RNA tal como se puede ver en la Tabla XXIX.

B) «In vitro».

Para estudiar la degradación del RNA en el contenido ruminal bajo condiciones controladas, se realizaron los siguientes experimentos:

1) Se obtuvieron unos 500 ml. del contenido ruminal de la oveja núm. 2 a las 11 de la mañana y se filtraron a través de gasa doble. 200 ml. del filtrado se mantuvieron en un recipiente taponado con algodón, a 37°C y en condiciones anaeróbicas, mediante un baño con termostato y una corriente de gas (95 % N y 5 % CO₂), que también servía para homogeneizar la muestra. Otros 200 ml. del filtrado, mantenidos en las mismas condiciones, se utilizaron como testigo.

TABLA XXVIII

Análisis del contenido ruminal de la oveja n.º 2 recogido a distintos intervalos después de la adición de 3 gr. de RNA al rumen durante 6 días

Día	Hora a la que se añadió el RNA	Período transcurrido desde la adición*	Composición del contenido ruminal		
			M. S. (%)	N-DNA (mg/100 ml)	N-RNA (mg/100 ml)
1	16,30	0	6,5	3,7	6,0
1	16,30	1	8,3	4,0	7,5
1	16,30	2	9,5	4,5	7,5
1	16,30	3	9,8	4,5	8,0
2	14,30	0	7,0	4,0	6,3
2	14,30	1	6,0	3,5	6,0
2	14,30	2	5,3	3,0	5,3
2	14,30	3	7,6	4,3	5,5
3	14,00	0	7,5	4,3	5,0
3	14,00	1	5,5	4,0	4,9
3	14,00	2	5,5	3,5	4,7
3	14,00	3	4,7	3,7	5,0
4	12,00	0	6,3	4,7	8,0
4	12,00	1	6,1	4,3	8,0
4	12,00	2	6,2	4,4	7,9
4	12,00	3	5,5	3,4	6,0
5	12,00	0	5,7	3,5	6,0
5	12,00	1	5,5	3,5	6,7
5	12,00	2	4,3	2,7	4,0
5	12,00	3	4,6	3,0	4,3
6	10,30	0	9,7	4,3	5,0
6	10,30	1	10,0	4,4	5,6
6	10,30	2	11,1	5,2	6,9
6	10,30	3	10,5	4,6	5,5

* Período transcurrido desde la adición del RNA hasta la toma de las muestras (horas). 0 significa que la muestra se tomó inmediatamente antes de la adición del RNA.

TABLA XXIX

Análisis del contenido ruminal del carnero n.º 7 recogido a distintos intervalos después de la adición de 6 gr. de RNA al rumen durante dos días

Día	Período transcurrido desde la adición*	Composición del contenido ruminal	
		N-DNA (mg/100 ml.)	N-RNA (mg./100 ml.)
1	0	6,5	10,3
1	1/2	6,3	14,5
1	1	6,0	9,5
1	2	5,2	9,0
2	0	5,8	9,0
2	1/2	5,0	15,5
2	1	5,5	9,2
2	2	4,7	8,0

* Período transcurrido desde la adición del RNA hasta la toma de las muestras (hora). 0 significa que la muestra se tomó inmediatamente antes de la adición de RNA.

Después de unos minutos de incubación, se añadieron, por cada 100 ml. 110 mg. de N-RNA disueltos en la menor cantidad posible de agua. Una cantidad igual de agua fue añadida al filtrado testigo. Inmediatamente y a intervalos regulares después de la adición del RNA, se tomaron muestras que serán llamadas «fluido ruminal» (f. r.); parte de cada una de ellas se centrifugó a 48.200 g. durante 20 minutos recogiendo el sobrenadante que será llamado «fluido exento de células» (f. e. c.).

TABLA XXX

Incubación del contenido ruminal con RNA (110 mg. N-RNA/100 ml) «in vitro»

Período transcurrido desde la adición del RNA*	Muestra**	NH ₃ (m. mol/litro)	N total (mg/100 ml.)	N-DNA (mg/100 ml.)	N-RNA (MG/100 ml.)
5	T-fr.	7,5	271,2	8,5	9,4
5	T-f. e. c.	8,3	26,2	0,0	0,0
5	R-f. r.	10,0	368,1	10,8	194,2
5	R-f. e. c.	8,7	210,0	0,0	252,2
60	R-f. r.	11,8	327,7	8,5	199,5
60	R-f. e. c.	11,0	210,0	0,0	232,8
180	T-f. r.	13,3	271,2	10,2	12,9
180	T-f. e. c.	13,3	271,2	10,2	12,9
180	T-f. e. c.	13,3	70,0	0,0	0,0
180	R-f. r.	126,5	385,0	9,8	85,4
180	R-f. e. c.	15,7	210,0	—	—

* Período transcurrido desde la adición del RNA hasta la toma de las muestras (minutos)

** T=testigo; R=contenido ruminal + RNA; f. r.=muestras del fluido ruminal; f. e. c.=muestras del fluido ruminal exento de células.

TABLA XXXI

Inoculación del contenido ruminal con RNA (10,2 mg N-RNA/100 ml.) «in vitro»

Período transcurrido desde la adición del RNA*	Muestra**	NH ₃ (m. mol./litro)	N-DNA (mg/100 ml.)	N-RNA (mg./100 ml.)
0	T	3,0	4,1	4,9
0	R	3,1	4,5	15,0
1/2	R	4,0	4,7	15,6
1	R	4,7	4,6	14,6
2	R	6,8	4,9	6,1
3	T	3,6	4,6	6,0
3	R	8,9	4,9	6,5

* Período transcurrido desde la adición del RNA hasta la toma de las muestras (horas).

** T=Testigo; R=contenido ruminal; 0 significa que la muestra fue tomada inmediatamente después de la adición del RNA.

Se determinó la concentración de amoníaco, N total y A. N. de ambas fracciones; los resultados figuran en la Tabla XXX.

2) Se llevó a cabo otro experimento similar con el contenido ruminal de la oveja núm. 1, recogido a las 11,45 de la mañana, con la diferencia de que la cantidad de RNA añadida fue de 10,2 mg./100 ml. y no se obtuvo la fracción f. e. c. de las muestras. Los resultados se representan en la Tabla XXXI.

V.II. Digestibilidad aparente de los ácidos nucleicos.

La digestibilidad aparente de los A. N. se determinó, utilizando PEG como sustancia de referencia, en los experimentos descritos en la Tabla XVIII. Los resultados obtenidos figuran en la Tabla XXXII.

DISCUSION

Diversos trabajos experimentales indican que la degradación, absorción y utilización de los A. N. ruminales por parte de los microorganismos es evidente.

GAUSSERES y FAUCONNEAU (1965) observaron microscópicamente, en la fase acuosa del contenido ruminal de bóvidos alimentados con heno de alfalfa, que los núcleos liberados de las células vegetales sufren una degradación física.

Los productos de degradación de los A. N. son factores totalmente necesarios para el crecimiento de varios microorganismos ruminales y facultativos para otros (AYERS, 1958; BELASCO, 1954; COLEMAN, 1968; JURTSNIK y col. 1958).

También existen datos sobre la utilización de los A. N. y sus derivados por parte de los animales monogástricos: BATESON y col. (1973) observaron la aparición de A. N. marcados en el cerebro de pollos posteriormente a la inyección de uracilo radiactivo. KOTANI y col. (1967a y b) determinaron en la sangre y la linfa

TABLA XXXII
Digestibilidad aparente de los ácidos nucleicos

Dieta*	Experimento N.º	Coeficiente de digestibilidad del DNA (%)*					
		Desde R hasta I	Desde Cu hasta I	Desde D hasta I	Desde R hasta Ci	Desde Cu hasta Ci	Desde D hasta Ci
h-m/2	1	55,2	62,9	62,3			
"	2	68,8	77,0	78,4			
"	3	44,4	61,4	68,6			
"	5	42,3		43,0			
"	6	49,8		31,1			
"	7	69,2		60,8			
"	9				69,1	65,7	71,6
"	10				72,6	71,5	79,5
"	Media ± S. D.	54,9 ± 11,7	67,1 ± 8,6	57,3 ± 17,3	70,8 ± 2,4	68,6 ± 4,1	75,5 ± 5,5
S	4	74,7	76,2	70,6			
a/2	8	66,6	65,4	65,6			
"		70,6 ± 5,7	70,8 ± 7,6	68,1 ± 3,5			
"	Media ± S. D.						

* Se utilizan las mismas abreviaturas que en la Tabla XVIII

TABLA XXXII (continuación)

Dieta	Experimento N.º	Coeficiente de digestibilidad del RNA (%)					
		Desde R hasta I	Desde Cu hasta I	Desde D hasta I	Desde R hasta CI	Desde Cu hasta CI	Desde D hasta CI
h-m/2	1	69,4	70,4	71,1			
"	2	77,9	83,2	81,3			
"	3	72,0	80,7	78,4			
"	5	75,6		74,3			
"	6	84,2		37,9			
"	7	78,5		74,6			
"	9				70,4	65,6	70,8
"	10				69,2	80,7	71,6
"	Media ± SD	76,2 ± 5,2	78,1 ± 6,7	72,9 ± 18,2	69,8 ± 0,8	73,1 ± 10,6	71,2 ± 0,5
a/2	4	77,1	76,9	77,0			
"	8	75,3	75,8	75,3			
"	Media ± S. D.	76,2 ± 1,2	76,3 ± 0,7	76,1 ± 1,2			

* Se utilizan las mismas abreviaturas que en la Tabla XVIII.

TABLA XXXII (continuación)

Dieta	Experimento N.º	Incremento en la cantidad de DNA (%)		Incremento en la cantidad de RNA (%)	
		Desde I hasta II*	Desde CI hasta II	Desde I hasta II	Desde CI hasta II
h-m/2	7	29,6		30,2	
"	9		32,2		29,6
"	10		31,7		31,5
"	Media ± S. D.		31,9 ± 0,2		30,5 ± 0,9

* H = heces

de ratas productos derivados del RNA y DNA, previamente inyectados en el lumen del intestino. Diversos estudios de digestibilidad han demostrado que las ratas y los cricetos utilizan eficientemente el RNA de la dieta (ANDERSON y col., 1970; ROLL y col. 1949; WILSON y WILSON, 1958).

En los rumiantes, el N-A. N. representa una proporción considerable del N total que abandona el rumen y se ha demostrado que los A. N. sintetizados en este órgano tienen valor nutritivo para los rumiantes (CONDON y HATFIELD, 1971; ELLIS y BLEICHNER 1969b).

La digestibilidad aparente de los A. N. microbianos sintetizados en el rumen-retículo es muy alta (RAZAQUE y TOPPS, 1972). El coeficiente de digestibilidad de la adenina de muestras tomadas desde el comienzo hasta el final del intestino delgado de óvidos es del 69 % (ELLIS y BLEICHNER, 1969a).

El Fluido ruminal cataliza la degradación de los A. N. alimentarios «in vivo» e «in vitro», con la producción de oligo y mononucleótidos, nucleósidos y bases púricas y pirimidínicas (McALLAN y SMITH, 1973 a y b). La bibliografía relacionada con la degradación de los A. N. ha sido revisada en el capítulo I de este trabajo.

SMITH y McALLAN (1971) encontraron aproximadamente las mismas concentraciones de A. N. en el rumen y en el duodeno de bóvidos. Los coeficientes de digestibilidad, determinados desde el duodeno hasta el íleo, del nitrógeno total, del RNA y del DNA, fueron del 67, 85 y 75 % respectivamente.

Los resultados de los experimentos «in vivo» descritos en este capítulo, indican que el RNA añadido al contenido ruminal desaparece en menos de 1 hora, lo cual coincide con los resultados de SMITH y McALLAN (1970). Una hora después de la adición de 3-8 gr. de RNA al rumen no fue posible detectar incrementos en la concentración del N total o del N-A. N. (Tablas XXVII y XXVIII).

A los 30 minutos de la introducción en el rumen de 6 gr. de RNA en una cápsula de gelatina, se encontró un incremento en la concentración del N-RNA equivalente al 43 % del teóricamente posible. A los 60 minutos de la adición de RNA, la concentración de N-RNA fue semejante a la del comienzo del experimento (Tabla XXIX). Puede suponerse que al no estar en disolución el RNA introducido

en el rumen mediante la cápsula de gelatina, son degradado más lentamente que si estuviera disuelto y puede también difundirse más lentamente en el contenido ruminal. Todo ello aumenta el riesgo de que las muestras tomadas del rumen no sean representativas en cuanto a la concentración del RNA.

Los resultados de la incubación «in vitro» del RNA (Tabla XXX) fueron muy ambiguos, ya que la recuperación del RNA después de 5 minutos de su adición representó el 167,9 % (184,77 mg. de N-RNA/100 ml.) de la cantidad añadida. En cambio, indicaron claramente que este ácido se degradó extensivamente ya que a las 3 horas de incubación, la concentración de N-RNA fue de 72,49 mg./100 ml. (el 39 % del RNA presente a los 5 minutos de incubación) mientras que la concentración de nitrógeno amoniacal aumentó en 158,3 mg./100 ml.

En el segundo experimento (Tabla XXXI) se añadió una menor cantidad de RNA, cuyo porcentaje de recuperación, inmediatamente después de su adición, fue del 99,8 %. Al cabo de 3 horas de incubación el N-RNA representaba sólo el 4,9 % de esta cifra en tanto que, aproximadamente, el 72,1 % del N-RNA añadido pudo ser detectado como N-NH₃.

Los cambios encontrados en la concentración de los A. N. con relación a la concentración de PEG a lo largo del tracto digestivo (Tabla XXXII) permiten llegar a las conclusiones siguientes:

a) Las relaciones de RNA/PEG y de DNA/PEG en el contenido del aparato digestivo recogido a través de las cánulas, no varían apreciablemente en las muestras tomadas desde el rumen al duodeno ni desde el íleo al ciego.

b) Cuando la dieta se compone de heno troceado y maíz en copos, del 55 al 67 % del DNA y del 73 al 78 % del RNA presentes en el primer tramo del aparato digestivo (del rumen al cuajar) desaparece antes de llegar al íleo.

Con la dieta de alfalfa granulada, los coeficientes correspondientes son del 68 al 71 % para el DNA y el 76 % para el RNA las diferencias entre los resultados obtenidos con ambas dietas no son estadísticamente significativas.

c) Las relaciones DNA/PEG y RNA/PEG en las heces son, aproximadamente, un 30 % más altas que en el íleo y en el ciego.

La semejanza encontrada entre los contenidos del íleo y del ciego puede ser debida a la proximidad anatómica entre las cánulas de ambos órganos o a la fácil solubilidad en agua del marcador utilizado.

CAPITULO VI

EXCRECION DE ALANTOINA

La excreción por la orina de los productos de degradación de los ácidos nucleicos, debe estar relacionada con la cantidad de dichos ácidos que es digerida y absorbida, a no ser que el organismo retenga los productos metabólicos de los ácidos

nucleicos. Por esta razón y ya que la alantoina es el principal producto de desecho del metabolismo de las purinas, se estudió la excreción de alantoina en la orina de óvidos y conejos en los experimentos descritos en este capítulo.

EXPERIMENTOS Y RESULTADOS

VI.1 Ovidos adultos.

A) La oveja núm. 3 (alimentada con heno y maíz) se mantuvo durante 12 días en una jaula metabólica. Durante los días 4, 5, 6 y 7 se introdujeron en el rumen, a las 11,30 de la mañana, 8, 5, 7 y 5 gr. de RNA respectivamente. La oveja núm. 2, mantenida en las mismas condiciones, sirvió como testigo.

La cantidad total de orina excretada se recogió diariamente a las 5 de la tarde, con excepción del 4.º día en el cual se recogió la orina inmediatamente antes de la introducción del RNA en el rumen y de nuevo a las 5 de la tarde. Estas muestras se llamaron, respectivamente, 4a y 4b, siendo designadas las demás por el número correspondiente al día del experimento.

Una vez medido el volumen total de orina excretada diariamente, se reservaban unos 20 ml. a —12°C hasta el momento de ser analizados.

Se determinó el N total y la alantoina de las muestras. Para calcular la excreción total del N alantóico en las muestras 4a y 4b se multiplicó la concentración encontrada en cada una de ellas por el volumen conjunto de ambas.

La excreción media de orina fue de 1.402 ± 307 ml./24 horas en la oveja núm. 3 y de 1.562 ± 208 ml./24 horas en la núm. 2. Los resultados figuran en la Tabla XXXIII. La diferencia no es significativa.

Durante los 7 primeros días del experimento se tomaron muestras del rumen a las 12,30 y se determinó su contenido en materia seca, A. N. y N total. Los resultados (Tabla XXVII) demuestran que la adición del RNA no causó ningún cambio en la composición del contenido ruminal.

B) Se realizó un experimento similar con la oveja núm. 2 alimentada con la dieta de alfalfa granulada. La orina se recogió diariamente a las 4 de la tarde durante 15 días y se determinó la cantidad de alantoina, ácido úrico y N total de las muestras. Durante los días, 4, 5 y 6 se introdujeron 5 gr. de RNA en el rumen a las 4,15 de la tarde.

Según los resultados (Tabla XXXIV), no existieron diferencias significativas entre las 15 muestras de orina tomadas a lo largo del período experimental.

C) En un tercer experimento se añadieron 5 gr. de RNA al rumen del animal núm. 5 (alimentado con alfalfa granulada) durante los días 2, 3 y 4 a las 4,15 de la tarde. La orina se recogió durante 10 días a las 4 de la tarde. Tampoco en este caso aumentó la cantidad de alantoina excretada por la orina como consecuencia de la adición del RNA, tal como se puede apreciar en la Tabla XXXV.

TABLA XXXIII

Excreción de alantoína en la orina de óvulos mantenidos con la dieta de heno y maíz

Animal número 3				
Día del experimento	RNA añadido al rumen (gr)	Nitrógeno alantóico		
		mg/ 100 ml.	Excreción total (mg/ 24 h)	% del N total
1	—	9,74	62,87	2,57
2	—	8,91	162,27	1,75
3	—	14,91	259,32	5,01
4 (a)	—	14,32	156,08	4,96
4 (b)	8	11,46	43,51	3,35
5	5	25,88	313,97	8,21
6	7	29,94	310,71	8,77
7	5	37,75	243,92	3,88
8	—	33,38	487,12	5,45
9	—	23,42	391,65	4,86
10	—	14,04	447,45	4,86
11	—	29,36	355,20	7,32
12	—	17,05	268,42	5,04

TABLA XXXIII (continuación)

Animal número 2 (testigo)				
Día del experimento	RNA añadido al rumen (gr.)	Nitrógeno alantóico		
		mg/ 100 ml.	Excreción total (mg/ 24 h)	% del N total
1	—	11,92	97,73	6,05
2	—	7,82	221,78	3,39
3	—	12,40	210,00	4,10
4 (a)	—	10,38	105,00	2,63
4 (b)	—	22,46	69,87	3,95
5	—	13,40	252,87	3,73
6	—	20,89	346,70	5,11
7	—	12,89	201,01	2,24
8	—	26,35	460,90	4,41
9	—	26,83	375,35	4,81
10	—	22,88	433,45	4,10
11	—	19,42	266,38	6,00
12	—	33,65	479,90	5,92

D) Los animales números 7 y 8 se mantuvieron durante 15 días en jaulas metabólicas, siendo alimentados con heno y maíz. Durante ese tiempo se recogió la orina a las 4 de la tarde como en los experimentos precedentes. Un cuarto de hora más tarde se introducían 8 grs. de RNA en el rumen de cada animal, durante 6 días consecutivos. Los resultados, resumidos en la Tabla XXXVI, no señalan diferencias significativas en la excreción de alantoína.

TABLA XXXIV

Excreción de alantoína y de ácido úrico en la orina de la oveja n.º 2 mantenida con la dieta de alfalfa granulada

Día del Exp.	RNA añadido al rumen (g)	mg/ 100 ml.		Excreción total (mg/ 24 h)	
		N alantóico	N del Ac. úrico	N alantóico	N del Ac. úrico
1	—	98,12	12,96	510,25	67,40
2	—	47,43	16,99	301,18	107,88
3	—	62,30	10,09	500,81	66,08
4	5	72,21	9,91	585,62	93,15
5	5	78,58	18,40	433,29	132,48
6	5	84,96	15,97	364,45	62,30
7	—	109,74	12,04	486,61	59,59
8	—	109,74	7,02	395,06	25,30
9	—	101,95	9,91	509,75	49,55
10	—	62,29	16,80	479,70	129,36
11	—	55,56	14,08	475,10	120,40
12	—	83,31	14,84	604,00	107,60
Media ± S. D.		80,51 ± 21,23	13,25 ± 2,52	470,48 ± 86,58	85,09 ± 34,67
				N total	Excreción de orina (ml/ 24 h)
				3500	520
				2000	635
				3320	655
				4440	940
				5670	720
				4160	690
				4150	495
				4910	360
				3760	500
				4170	770
				4000	855
				3708	725
				3980 ± 890	630 ± 181

TABLA XXXIV (continuación)

Día del Exp.	RNA añadido al rumen (g)	N alantóico (% del N total)	N del ácido úrico (% del N total)
1	—	14,5	1,9
2	—	15,1	5,3
3	—	15,2	1,9
4	5	13,2	2,0
5	5	7,6	2,3
6	5	8,7	1,4
7	—	11,7	1,4
8	—	8,0	5,1
9	—	13,5	1,3
10	—	11,5	3,1
11	—	11,8	3,0
12	—	16,2	2,9
Media \pm S. D.		12,2 \pm 2,9	2,6 \pm 1,3

VI.II. Corderos.

Se determinó la concentración de alantoína en la orina de los corderos del grupo «a», descritos en el capítulo III, Tablas XI y XII.

Se analizó una muestra de la orina de cada animal. El valor medio de los cuatro resultados señala que la concentración del N alantóico representa el 4,2 \pm 0,9 % del N total urinario.

TABLA XXXV

Excreción de alantoína en la orina del animal número 5 mantenido con la dieta de alfalfa granulada

Día del Exp.	RNA añadido al rumen (g)	N alantóico			Excreción de orina (ml/ 24 h)
		mg/ 100 ml.	Excreción total (g/ 24 h)	% del N total	
1	—	100,00	1,90	23,7	1900
2	5	91,19	1,18	15,8	1295
3	5	97,13	1,91	24,1	1975
4	5	115,19	1,71	19,3	1490
5	—	152,36	1,49	17,4	980
6	—	129,56	1,45	14,0	1120
7	—	106,76	1,68	24,4	1580
8	—	114,48	1,70	20,5	1485
9	—	150,50	1,72	21,3	1495
10	—	123,23	1,22	18,6	990
Media \pm S. D.		118,04 \pm 21,14	1,59 \pm 0,25	19,9 \pm 3,5	1427 \pm 345

TABLA XXXVI

Excreción de alantoína en la orina de bóvidos alimentados con la dieta de heno y maíz.

RNA añadido diariamente al rumen	Días del experimento	N alantóico	(% del N total)
		Animal n.º 7	Animal n.º 8
8 g	Del 1 al 6	5,07 \pm 1,3	5,49 \pm 0,8
—	Del 7 al 15	6,00 \pm 2,2	4,62 \pm 1,6

TABLA XXXVII

Excreción de alantoína en la orina de conejos

Procedencia de las muestras	Días del experim.	Dieta*	N total (g/ 100 ml.)	N alantóico (mg/ 100 ml)	N alantóico (% del N total)
Grupo a	1 y 2	g. c.	5,53	51,35	0,92
Grupo a	Del 3 al 5	g. c. + RNA	4,36	48,96	1,12
Grupo b	1 y 2	g. c.	3,11	49,36	1,58
Grupo b	Del 3 al 5	g. c.	2,66	38,51	1,44

* g. c. = gránulos comerciales

g. c. + RNA = gránulos comerciales suplementados con 2 gr. diarios de RNA

VI.III. Conejos.

Se utilizaron 6 conejos para el experimento descrito en el Capítulo III, Tabla XIV. Tres de ellos (Grupo a) recibieron con su dieta un suplemento diario de 2 grs. de RNA durante 3 días. Los otros tres animales (Grupo b) sirvieron como testigos.

Se recogió la orina total de cada grupo de conejos durante los dos días anteriores al experimento y los tres días en los que se añadió RNA a la dieta. Los resultados figuran en la Tabla XXXVII.

DISCUSION

TOPPS y ELLIOT (1965) consideran que la conversión en el rumen del N alimentario en N púrico es la causa de que el valor biológico de la proteína de la dieta sea menor en los rumiantes que en los monogástricos. Señalan estos autores que en tanto que la excreción de bases púricas por parte de los monogástricos y bóvidos lactantes no disminuye con el ayuno del animal, dicha excreción sufre una disminución de aproximadamente el 50 % en el caso de bóvidos adultos en estado

de ayuno. Comprobaron que existe una correlación altamente significativa ($r=0,537$; $P < 0,001$), entre la concentración de A. N. en el rumen y la cantidad conjunta de alantoina y ácido úrico excretados por la orina.

Estos autores realizaron una serie de experimentos en los que alimentaron óvulos adultos con diversas dietas de distinto contenido energético y desprovistas de proteína, DNA y RNA. Estas dietas contenían un 10 % de N, en forma de urea, cefna, metionina, isoleucina, triptófano, lisina o valina. El N de la dieta, debido a su solubilidad en etanol del 70-80 %, podía ser fácilmente separado del N de la proteína microbiana y de los ácidos nucleicos.

Incubando «in vitro» muestras del rumen tomadas después de la comida de la mañana, pudieron comprobar que el N microbiano aumenta con el período de incubación y está correlacionado positivamente con el N-RNA y el N-DNA.

Entre el 13,8 y el 18,4 % del N microbiano pertenece al N-A. N.; del 10,4 al 14,8 % pertenece al N-RNA y del 2,2 al 4,1 % al N-DNA.

El N-A. N. microbiano representó, así mismo, entre el 5,0 y el 7,6 del N total de la ingesta cuando el N de la dieta estuvo en forma de cefna y entre el 8,4 y el 13,3 % si estaba en forma de urea y aminoácidos.

La excreción de derivados de las purinas en la orina y la concentración de A. N. en el rumen eran más elevadas cuando los animales recibían las dietas más energéticas.

BLAXTER y MARTÍN (1962) llevaron a cabo un experimento en el que óvulos adultos, provistos de cánulas en el rumen y en el cuajar, recibían una ración básica que les mantenía en balance positivo de N y de energía. Durante un mínimo de 7 días introducían por perfusión en el cuajar o en el rumen una solución que contenía de 11,1 a 30,8 gr. de caseína. La energía neta y metabolizable de la caseína, así como su digestibilidad, eran menores cuando se introducía en el rumen que en el cuajar. En el primer caso, el 83 % del N infundido aparecía en la orina, mientras que cuando la adición de la caseína se realizaba en el cuajar, este porcentaje era del 86 %, no siendo significativa la diferencia.

Los resultados obtenidos al analizar la orina indican una diferencia en el metabolismo de la caseína añadida, debido a los procesos fermentativos del rumen. En efecto, los animales que habían recibido la caseína en el rumen excretaban una mayor proporción de N amoniacal que los que habían recibido la caseína en el cuajar. Los valores correspondientes al N alantoico y al N del ácido hipúrico indicaban lo mismo, pero la diferencia observada no es significativa y los valores obtenidos son demasiado pequeños para permitir llegar a conclusiones definitivas: La excreción de N alantoico representaba el 1,7 o el 0,98 % del N total urinario en el caso de realizarse la adición de la caseína en el rumen o en el cuajar respectivamente.

La introducción de la caseína en el rumen puede provocar un incremento en la síntesis del N microbiano, N que, por ser hidrolizado incompletamente en el curso de su digestión posterior, es la causa de que la digestibilidad aparente de la caseína sea menor que cuando se introduce en el cuajar.

Según los autores, el incremento encontrado en la excreción de alantoina y de ácido hipúrico al infundirse la caseína en el rumen, indica la existencia de hidrólisis bacteriana.

Sobre el valor nutritivo de los ácidos nucleicos existen diversos datos contradictorios, tal como se expuso en el capítulo I.

Los experimentos descritos en este capítulo demuestran que la proporción de N total urinario excretado como N alantoico, es mayor con la dieta de alfalfa granulada que con la de heno y maíz, siendo los respectivos valores medios de 16,0 y 4,8 % ($P < 0,001$).

El N alantoico, expresado como porcentaje del N total es parecido en los corderos (4,2 %) y en los óvulos adultos alimentados con heno de maíz (4,8 %), tal como podía esperarse teniendo en cuenta que la concentración de A. N. en el contenido del rumen es similar para ambos grupos de animales (Tablas VIII y XII).

La dosis diaria de RNA introducida en el rumen (de 5 a 8 gr.) es aproximadamente equivalente a la cantidad que se encuentra en dicho órgano, por lo que su introducción debería duplicar la concentración del RNA ruminal. Esto no sucede así (véase el capítulo V) por lo que se supone que el RNA exógeno es rápidamente degradado en el rumen; por otra parte, tampoco se detectó ningún incremento en la excreción de alantoina, de ácido úrico o de N total por la orina.

Suponiendo que un 83 % del N añadido al rumen apareciera en la orina (BLAXTER y MARTÍN, 1962), se podría esperar un incremento de 622-996 mg. en la excreción diaria de N urinario. Si esta cantidad se excretara en forma de N alantoico produciría una diferencia significativa en la concentración de alantoina en la orina, pero no produciría ninguna diferencia estadísticamente significativa en la cantidad de N total excretado. Será por lo tanto necesario llevar a cabo otros trabajos de investigación para aclarar este problema.

El porcentaje de N total excretado en forma de alantoina por los conejos es aproximadamente 1/3 ó 1/4 del excretado por los óvulos alimentados con heno y maíz. Recordemos que el N-A. N. expresado como tanto por ciento del N total, es aproximadamente de 4 en el estómago de los conejos y de 9 en el cuajar de los óvulos.

Los resultados obtenidos al suplementar con RNA la dieta de los conejos (Tabla XXXVII) no nos permiten llegar a conclusiones definitivas.

CONCLUSIONES

De los resultados expuestos en esta Memoria se pueden obtener las siguientes conclusiones:

1.—Los ácidos nucleicos de origen exógeno no influyen en el nivel de dichos ácidos presente en el contenido del aparato digestivo. La cantidad de ácidos nucleicos de origen endógeno y alimentario en corderos es de aproximadamente 13,5

mg/100 g. de sustancia seca. Los ácidos nucleicos presentes en el contenido ruminal son principalmente de origen microbiano.

2.—La proporción de ácidos nucleicos en el contenido del aparato digestivo es mayor cuando los óvidos reciben una dieta de alfalfa granulada que cuando reciben heno y maíz (Tabla VIII). En cambio, las dietas utilizadas no influyen en la cantidad de ácidos nucleicos que pasan diariamente a lo largo del aparato digestivo ni en su digestibilidad aparente.

3.—El flujo de los ácidos nucleicos es superior cuando la ración diaria se administra en 12 tomas que cuando se administra en 2, pero el número de tomas diarias no influye en la proporción de los ácidos nucleicos presentes en los diversos tramos del tracto digestivo.

4.—El flujo del contenido del aparato digestivo, así como el volumen ruminal es superior con la dieta de heno y maíz que con la de alfalfa granulada.

5.—La proporción de ácidos nucleicos no varía significativamente desde el rumen hasta el duodeno. En el íleo, es aproximadamente 3,5 veces menor que en el duodeno y dicha proporción se duplica desde el íleo hasta el ciego.

Entre el 9,5 y el 10,5 % del nitrógeno total que llega al cuajar es nitrógeno nucleínico.

La concentración de ácidos nucleicos, expresada como porcentaje de la materia seca es similar en el ciego y en las heces.

6.—Entre el 55 y el 71 % del DNA y entre el 76 y el 78 % del RNA son degradados entre el duodeno y el íleo.

Desde el íleo hasta las heces, la proporción de ácidos nucleicos, medida con relación a un marcador (PEG), experimenta un aumento del 30 %.

7.—La digestibilidad aparente de los ácidos nucleicos en los conejos es aproximadamente del 68,5 %.

8.—La cantidad de nitrógeno alantoico excretada en la orina representa el 4,8 % del N total en óvidos alimentados con heno y maíz y el 16,0 % del N total en los óvidos que recibieron la dieta de alfalfa. La diferencia es estadísticamente significativa.

RESUMEN

Se ha llevado a cabo un estudio sobre los ácidos nucleicos presentes en el contenido del aparato digestivo de óvidos adultos de raza Clunn Forest y Welsh Mountain. Se realizaron igualmente algunos estudios comparativos en corderos gnotobióticos y en conejos.

Los óvidos adultos fueron preparados quirúrgicamente mediante la colocación de cánulas en distintos órganos y tramos del aparato digestivo con el fin de obtener muestras del contenido de éste.

Los animales recibieron dos dietas distintas bien alfalfa granulada o bien heno

troceado y maíz en copos, que les proporcionaba, respectivamente, 18,3 y 14,6 gr. diarios de N total y 481,4 y 529,4 mg diarios de nitrógeno nucleínico.

La ración diaria (800 gr. de alfalfa granulada o 700 gr. de heno y 200 gr. de maíz) se administró en 2 ó en 12 tomas diarias.

Se estudió la distribución de los ácidos nucleicos y las variaciones diurnas en la proporción de dichos ácidos en el contenido ruminal, así como la influencia de la dieta y del número de tomas diarias en el nivel de los ácidos nucleicos presentes en el contenido del aparato digestivo.

Utilizando polietilenglicol como sustancia de referencia, se estudió la cantidad de ácidos nucleicos que pasan a través de los distintos tramos del aparato digestivo así como su degradación; se pudo observar que los ácidos nucleicos ruminales son degradados entre el duodeno y el íleo.

Se estudió por último la influencia de la dieta en la excreción urinaria de los derivados de las bases púricas.

RESUME

On a effectué une étude sur les acides nucléiques présents dans le contenu de l'appareil digestif d'ovins adultes de race Clunn et Welsh Mountain. On a effectué également quelques études comparatives dans des agneaux gnotobiotiques et dans des lapins.

Les ovins adultes furent préparés chirurgicalement en plaçant des canules dans de différents organes et divisions de l'appareil digestif afin d'obtenir des échantillons du contenu de cet appareil digestif.

Les animaux reçurent deux diètes différentes: de la luzerne granulée ou bien du foin en morceaux avec du maïs en flocons, ce qui leur fournissait 18,3 et 14,6 grammes de N total, et 481,4 et 529,4 milligrammes de nitrogène nucléinique par jour, respectivement.

La ration par jour (800 grammes de luzerne granulée ou 700 grammes de foin avec 200 grammes de maïs) fut administrée en 2 ou 12 fois par jour.

On étudia la distribution des acides nucléiques et les variations diurnes dans la proportion des susdits acides dans le contenu du rumen, ainsi que l'influence de la diète et du nombre de rations par jour dans le niveau des acides nucléiques présents dans le contenu de l'appareil digestif.

En employant du polyéthylglycol comme substance de référence on a déterminé la quantité d'acides nucléiques qui passent à travers les différentes sections de l'appareil digestif, ainsi que leur dégradation; on a pu constater que les acides nucléiques du rumen sont dégradés entre le duodénum et l'iléon.

On a étudié, enfin, l'influence de la diète sur l'excrétion urinaire des dérivés des bases puriques.

SUMMARY

A study has been carried out on the nucleic acids present in the contents of digestive system of adult ovidae of Clun Forest and Welsh Mountain breed. Some comparative studies were also performed on gnotobiotic lambs and on rabbits.

Adult ovidae were surgically prepared by placing some probes in different organs and spaces in the digestive system in order to obtain some samples of the contents in this digestive system.

The animals received two different diets, either granulated lucerne or timothy, or hay in pieces and corn (flakes), which provided them with 18.3 g and 14.6 g of N total daily, and 481.4 mg and 529.4 mg of nucleic nitrogen daily.

The daily ratio (800 g of granulated lucerne, or 700 g of hay and 200 g of corn (flakes), was administered 2 or 12 times a day.

The distribution of nucleic acids and the diurnal variations in the ratio of snid acids contained in the rumen were studied, as well as the influence of the diet and of the number of daily dosage at the level of nucleic acids present in the digestive system contents.

The quantity of nucleic acids passing through the different spaces in the digestive system, as well as their degradation were studied using polyethylenglycol as reference substance; it was possible to notice that the nucleic acids in the rumen are degraded between the duodenum and the ileum.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Prof. Dr. Eduardo Zorita por su constante y valiosa ayuda y dirección.

Igualmente, al Prof. A. T. Phillipson por su inestimable colaboración durante la realización de este trabajo en su Departamento. Al Prof. R. J. Moir y al Dr. J. Mason por su interés y estímulo.

Asimismo a los Dres. J. A. Guada, F. J. Ovejero y, especialmente, al Dr. Sanz Arias sus ciertos consejos en la corrección del original y a los Dres. T. J. L. Alexander y R. J. Lyson su generosa colaboración al permitirme utilizar los corderos gnotobióticos.

A la Srta. A. Campelo que mecanografió el manuscrito, por su paciencia, amabilidad y eficacia; al Sr. A. P. Cranfield por su desinteresada y eficaz ayuda técnica y a todos los que de alguna forma han contribuido a la realización de este trabajo.

Deseo igualmente expresar mi agradecimiento al Ministerio de Educación y Ciencia y a la División de Ciencias Matemáticas, Médicas y de la Naturaleza del C. S. I. C., por la ayuda económica prestada.

BIBLIOGRAFIA

- ALEXANDER, C. E. (1969): *J. Anim. Sci.* 29, 69.
 ANDERSON, J. A.; CONDON, R. J. y HATFIELD, E. E. (1970): *J. Am. Sci.* 31, 1037.
 ASH, R. W. (1961): *J. Physiol.* 156, 93.
 AYERS, W. A. (1958): *J. Bact.* 76, 504.
 BADAWY, A. M. (1964): «*Terrole of the gastrointestinal tract in protein metabolism*», H. N. Monro, Ed. Blackwell Scientific Publication. Oxford.
 BADAWY, A. M.; CAMPBELL, R. M.; CUTHBERTSON, D. P. y FELL, B. F. (1957): *Nature*, 180, 756.
 BAKER, F. y HARRISS, S. T. (1947): *Nutr. Abst. and Revs.* 17, 3.
 BARNARD, E. A. (1969a): *Nature*, 221, 340.
 BATESON, P.; ROSE, S. y HORN, G. (1973): *Science* 181, 576.

- BELASCO, J. J. (1954): *J. Anim. Science*, 18, 601.
 BERGEN, W. G.; PUNSER, D. B. y CLINE, T. H. (1967): *J. Nutr.* 92, 357.
 BERGEN, W. G.; PUNSER, D. B. y CLINE, T. H. (1968): *J. Dairy Sci.* 51, 1698.
 BERGNER, H. (1966): *Arch. Tierernahrung*, 16, 141.
 BLAXTER, K. L. (1961): «*Digestive Physiology and Nutrition of the Ruminant*», capítulo 16, D. Lewis Ed. Butterworths, Londres.
 BLAXTER, K. L. (1964): «*The role of the gastrointestinal tract in protein metabolism*», pág. 143, H. N. Monro Ed. Blackwell Scientific Publication, Oxford.
 BLAXTER, K. L. y GRAHAM, N. McC. (1956): *J. Agric. Sci. Camb.* 47, 207.
 BLAXTER, K. L. y MARTIN, A. K. (1962): *Br. J. Nutr.* 16, 397.
 BONNER, J. (1950): «*Plant Biochemistry*», capítulo 15. Academic Press, N. Y.
 BOUCKAERT, J. H. y OYAERT, W. (1954): *Nature*, 174, 1, 195.
 BOYNE, A. W.; CAMPBELL, R. M.; DAVIDSON, J. y CUTHBERTSON, D. P. (1956): *Br. J. Nutr.* 10, 325.
 BRATANOV, K.; YOSSIFOV, K. y TSEKOVA, E. (1968): *Vet. Med. Nauki*, Sofia, 5, 7.
 BRAUDE, R.; KON, S. K. y WHITE, E. G. (1943): *The J. of Comp. Path. and Therapeutics*, 53, 161.
 BROOKES, B. C. y DICK, W. F. L. (1967): «*Introduction to Statistical Method*». Heineman Educational Books, Ltd. London.
 BROUGHTON, W. J. (1970): *Anal. Bioch.* 38, 291.
 BRUCE, J.; GOODALL, E. D.; KAY, R. N. D.; PHILLIPSON, A. T. y VOWEES, L. E. (1966): *Proc. Roy. Soc. B.* 166, 46.
 BURTON, K. (1956): *Biochem. J.* 62, 307.
 CASTLE, E. (1956a): *Br. J. Nutr.* 10, 15.
 CASTLE, E. (1956b): *Br. J. Nutr.* 10, 115.
 CHALMERS, M. J.; SYNGE, R. L. M. (1954): *Advances in Protein Chemistry*, 9, 93.
 CLARK, J. L.; HEMBOREY, F. G.; THOMPSON, G. B. y PRESTON, R. L. (1972): *J. Dairy Sci.* 55, 1,160.
 COLEMAN, G. S. (1968): *J. Gen. Microbiol.* 54, 53.
 CONDON, R. J. (1971): *Diss. Abstr. Internat.* 32 B, 641.
 CONDON, R. J.; HALL, C. y HATFIELD, E. E. (1970): *J. Am. Sci.* 31, 1,037.
 CONDON, R. J. y HATFIELD, E. E. (1970): *J. Am. Sci.* 31, 1,037.
 CONRAD, H. R.; MILES, R. T. y BUTDORF, J. (1967): *J. Nutr.* 91, 337.
 CONWAY, E. J. (1957): «*Microdiffusion Analysis and Volumetric Error*». 4a. Ed., Crosby Louck-wood, London.
 COOMBE, J. B. y KAY, R. N. B. (1965): *Br. J. Nutr.* 19, 325.
 CORBETT, J. L.; GREENHALGH, J. F. D. y FLORENCE, E. (1959): *Br. J. Nutr.* 13, 337.
 CARARKE, E. M. W.; ELLINGER, G. M. y PHILLIPSON, A. T. (1966): *Proc. Royal Soc. B.* 166, 68.
 CZERKAWSKY, J. W. y BRECKENRIDGE, G. (1969): *Br. J. Nutr.* 23, 559.
 DAM, R.; LEE, S.; FRY, P. C. y FOX, H. (1965): *J. of Nutr.* 86, 376.
 DARNELL, Jr., J. E. (1968): *Bact. Rev.* 32, 262.
 DAVIDSON, J. N. (1969): «*The Biochemistry of the Nucleic Acid*». Methuen and Co. Ltd. London.
 ELLIS, W. C. y BLEICHNER, K. C. (1969a): *Fed. Proc.* 28, 623.
 ELLIS, W. C. y BLEICHNER, K. C. (1969b): *J. Anim. Sci.* 29, 157.
 ELLIS, W. C. y PFANDER, W. H. (1965): *Nature*, 205, 974.
 FEICHTMEIR, T. C. y WRENN, H. T. (1955): *Amer J. Clin. Pathol.* 25, 833.
 FERGUSON, W. S. y TERRY, R. A. (1953): *Nature* 172, 346.
 GAUSSERES, A. B. y FAUCONEAU, G. (1965): *Ann. Bio. Anim. Bioch. Biophys.* 5, 5.
 GRAY, F. V.; PILGRIM, A. F. y BELLER, R. A. (1953): *Nature*, 172, 347.
 GROOT, A. P. DE; TILL, H. P. y FERON, V. J. (1970a): *Fd. Cosmet. Toxicol.* 8, 267.
 GROOT, A. P. DE; TILL, H. P. y FERON, V. J. (1970b): *Ed. Cosmet. Toxicol.* 8, 499.
 HALE, E. B.; DUNCAN, C. W. y HUFFMAN, C. F. (1947a): *J. Nutr.* 34, 737.
 HALE, E. B.; DUNCAN, C. W. y HUFFMAN, C. F. (1947b): *J. Nutr.* 34, 747.
 HARRIS, L. E. y PHILLIPSON, A. T. (1962): *Anim. Prod.* 4, 97.
 HARRISON, F. A. y HILL, K. L. (1962): *J. Physiol.* 162, 225.
 HOGAN, J. P. y PHILLIPSON, A. T. (1960): *Br. J. Nutr.* 14, 147.
 HOGAN, J. P. y WESTON, R. H. (1967a): *Austr. J. Agric. Res.* 18, 803.
 HOGAN, J. P. y WESTON, R. H. (1967a): *Austr. J. Agric. Res.* 18, 937.
 HRYNIEWICKI, L. (1965): *Biochem. J.* 95, 238.
 HUME, I. D.; MOIR, R. J. y SOMERS, M. (1970): *Austr. J. Agric.* 21, 283.
 HUNGATE R. E. (1966): «*The rumen and its microbes*». Academic Press N. Y.
 HUTTON, K.; BAILEY, F. J. y ANNISON, E. F. (1971): *Br. J. Nutr.* 25, 165.
 HYDEN, S. (1955): *Ann. Roy. Acr. Coll. Sweden*, 22, 139.
 HYDEN, S. (1961): *Ann. Roy. Acr. Coll. Sweden*, 27, 51.
 JURTSUK, Jr., D.; DOETSCH, R. N. y SHAW, J. C. (1958): *J. Dairy Sci.* 41, 190.

KLOOSTER, A. T. van't (1967): *Med. Landbouwhogeschool, Wageningen*, 67, 5.
 KLOOSTER, A. T. van't y ROOIJN, P. A. M. (1969): *Med. Landbouwhogeschool, Wageningen*, 69, 11.
 KOTANI, M.; YAMASHITA, A.; RAY, F. y col. (1967a): *Jap. Ctr. J.* 31, 1745.
 KOTANI, M.; YAMASHITA, A.; SEIKI, K. y col. (1967b): *Z. Zellforsch.* 83, 359.
 LOOSLI, T. K.; WILLIAMS, H. H. y col. (1949): *Sci. N. Y.* 110, 144.
 McALLAN, A. B. y SMITH, R. H. (1969): *Br. J. Nutr.* 23, 671.
 McALLAN, A. B. y SMITH, R. H. (1972): *Proc. Nutr. Soc.* 31, 24A.
 McALLAN, A. B. y SMITH, R. H. (1973a): *Br. J. Nutr.* 29, 331.
 McALLAN, A. B. y SMITH, R. H. (1973b): *Br. J. Nutr.* 29, 467.
 McDONALD, I. W. (1954): *Bioch. J.* 56, 120.
 McDONALD, I. W. y HALL, R. J. (1957): *Biochem. J.* 67, 400.
 McNAUGHT, M. L.; SMITH, J. A. B.; HENRY, K. M. y KON, S. K. (1950): *Bioch. J.* 46, 32.
 McNAUGHT, M. L. y col. (1954): *Bioch. J.* 56, 151.
 MANGAN, J. L. y WRIGHT, P. C. (1968): *Res. In. Vet. Sci.* 9, 366.
 MASON, V. C. (1969): *J. Agric. Sci. Camb.* 73, 99.
 MASON, V. C. (1971): *J. Agric. Sci. Camb.* 76, 157.
 MASON, V. C. y WHITE, F. (1971): *J. Agric. Sci. Camb.* 77, 91.
 MASSON, M. (1950): *J. Nutr.* 4, VIII.
 MASSON, M. J. y PHILLIPSON, A. T. (1952): *J. Physiol.* 116, 98.
 MASTERS, C. J. (1963): *Austral. J. Biol. Sci.* 16, 192.
 MAYNARD, L. A. y LOOSLI, L. K. (1962): *«Animal Nutrition»* 5a Ed. McGraw-Hill Book Company Inc.
 MUNRO, H. M. y CLARK, C. M. (1959): *Biochem. Biophys. Acta.* 33, 551.
 MUNRO, H. M. y GOLDBERG, D. M. (1964): *«The role of the gastrointestinal tract in protein metabolism»*. H. N. Munro Ed. Blackwell Scientific Publications.
 MUNRO, H. N. y MUKERJI, D. (1958): *Biochem. J.* 69, 321.
 MUNRO, H. N. y MUKERJI, D. (1962): *Biochem. J.* 82, 520.
 MUNRO, H. N.; WADDINGTON, S. y BEGG, D. J. (1965): *J. Nutr.* 85, 319.
 NASSET, E. S. (1964): *«The role of the gastrointestinal tract in protein metabolism»*. H. N. Munro, Ed. Blackwell Scientific Publications Oxford.
 NIDHARDT, F. C. A. (1963): *Rev. Microbiol.* 17, 61.
 OFFER, N. W.; EVANS, R. A. y AXFORD, R. F. E. (1971): *Proc. Nutr. Soc.* 30 (2) 42A.
 OGUR, M.; ROSEN, G. (1950): *Arch. Biochem.* 25, 262.
 OVEREND, W. G.; SHAFIZADEH, F. y STACEY, M. (1950): *J. Chem. Soc.* 1, 1.027.
 OYAERT, W. y BOUCKAERT, J. H. (1961): *Res. Vet. Sci.* 2, 41.
 PEARSON, R. N. y SMITH, J. A. B. (1943): *Bioch. J.* 37, 153.
 PHILLIPSON, A. T. (1952): *J. Physiol.* 116, 84.
 PHILLIPSON, A. T. (1963): *«Mammalian protein metabolism»*. Vol. 1. pág. 71, Academic Press, N. Y.
 PHILLIPSON, A. T. y ASH, R. W. (1965): *«Physiology of digestion in the ruminant»*. Butterworth Inc. Washinton. D. C.
 PHILLIPSON, A. T. y INNES, J. R. M. (1939): *Quart. J. Exp. Physiol.* 39, 333.
 PICKARD, D. W. y STEVENS, T. E. (1972): *Amer. J. Physiol.* 222, 1.161.
 PILGRIM, A. F.; GRAY, F. V.; WELLER, R. A. y BELLING, C. B. (1970): *Br. J. Nutr.* 24, 589.
 POUNDEN, W. D.; FERGUSON, L. C. y HIBBS, J. W. (1950): *J. Dairy Sci.* 33, 565.
 PURSER, D. B. y BUECHLER, S. M. (1966): *J. Dairy Sci.* 49, 81.
 RAZZAQUI, M. A. y TOPPS, J. A. (1972): *Porc. Nutr. Soc.* 31, 105A.
 ROLL, P. M.; BROWN, G. B.; di CARLO, F. J. y SCHULTZ, A. S. (1949): *J. Biol. Chem.* 180, 333.
 SCHMIDT, G. y THANNHAUSER, S. J. (1945): *J. Biol. Chem.* 161, 83.
 SCHNEIDER, W. C. (1945): *J. Biol. Chem.* 161, 293.
 SINGLETON, A. G. (1961): *J. Physiol.* 155, 134.
 SINHA, K. M.; MARTZ, F. A.; JOHNSON, H. D. y HAHN, L. (1970): *J. Anim. Sci.* 30, 467.
 SMITH, R. B. (1958): *Nature*, 182, 260.
 SMITH, R. H. (1962): *Bioch. J.* 83, 151.
 SMITH, R. H. (1969): *J. Dairy Res.* 36, 313.
 SMITH, R. H. y McALLAN, A. B. (1970): *Br. J. Nutr.* 24, 545.
 SMITH, R. H. y McALLAN, A. B. (1971): *Br. J. Nutr.* 25, 181.
 SMITH, R. H.; McALLAN, A. B. y HILL, W. E. (1969): *Porc. Nutr. Soc.* 28, 28A.
 SNEDECOR, G. W. y COCHRAN, W. G. (1967): *«Statistical Methods»*. 6a Ed. Iowa State University Press.
 SPERBER, I.; HYDEN, S. y EKMAN, J. (1953): *Ann. Roy. Agr. Coll. Sweden*, 20, 337.

SUMMERS, J. D. y FISHER, H. (1962): *J. Nutr.* 76, 187.
 SYNGE, R. L. M. (1953): *J. Gen. Microbiol.* 9, 407.
 TEMLER-KUCHANSKI, A. y GAUSSENES, B. (1965): *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 5, (2), 207.
 THOMSON, F. y LAMMING, G. E. (1972): *Br. J. Nutr.* 24, 391.
 TOPPS, J. H. y ELLIOT, R. C. (1965): *Nature*, 205, 498.
 UMAÑA, R. (1965): *J. Nutr.* 85, 169.
 VAZ PORTUGAL, A. (1963): Ph.D. Thesis Aberdeen.
 VENDRELI, R. (1946): *«Symposium sur les proteines»*. P. 165 Masson y Cia. Paris (citado por GAUSSENES y FAUCONEAU, 1965).
 VIITANEN, A. I. (1966): *Science* 153, 1.603.
 WALKER, D. J. y NADER, C. J. (1968): *Appl. Microbiol.* 16, 1.124.
 WARNER, A. C. I. (1966a): *J. Gen. Microb.* 45, 213.
 WARNER, A. C. I. (1966b): *J. Gen. Microb.* 45, 237.
 WARNER, A. C. I. (1966c): *J. Gen. Microb.* 45, 243.
 WARNER, A. C. I. y STACY, B. D. (1965): *Quart. J. Exp. Physiol.* 50, 169.
 WASLIEN, C. I.; CALLOWAY, D. H.; MARGEN, S. y COSTA, F. (1970): *J. of Food. Sci.* 35, 294.
 WELLER, R. A. (1957): *Austr. J. Biol. Sci.* 10, 384.
 WELLER, R. A.; GRAY, F. V. y PILGRIM, A. E. G. (1958): *Br. J. Nutr.* 12, 421.
 WESTON, R. H. y HOCAN, J. P. (1967): *Austr. J. Agric. Res.* 18, 789.
 WILSON, T. H. (1962): *«Intestinal absorption»*. P. 204. Saunders, Philadelphia.
 WILLSON, T. H. y WILSON, D. W. (1958): *J. Biol. Chem.* 233, 1.544.
 WORK, J. E. y DEWEY, D. L. (1953): *J. Gen. Microbiol.* 9, 394.
 YOSHIDA, T. y KANDATSU, N. (1968): *Japan. J. Zootech. Sci.* 39, 220.
 YOUNG, V. R. y ALEXIS, S. D. (1968): *J. Nutr.* 96, 255.
 YOUNG, E. G. y CONWAY, C. F. (1942): *J. Biol. Chem.* 142, 839.
 ZUNTZ, N. (1891): *Pflug. Arch. Gen. Physiol.* 49, 483. (citado por McDONALD, I. W., 1954).