



UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
Facultad de Ciencias Veterinarias
Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias

**Excreción diaria de Nitrógeno, Urea y Creatinina en la orina
de vacas lecheras confinadas**

Tesis de grado presentada como parte de
los requisitos para optar al grado de
LICENCIADO EN MEDICINA VETERINARIA.

Jaime Alejandro Céspedes Honorato
Valdivia Chile 1998

PROFESOR PATROCINANTE




Dr. Fernando Wittwer M.

PROFESOR COLABORADOR

Dr. Diego Ibarra R.

PROFESORES CALIFICADORES



Dr. Marcos Moreira E.



Dr. Ricardo Vidal M.

FECHA DE APROBACIÓN

9 de marzo de 1998

*... a la memoria
de mi padre*

INDICE

RESUMEN	1
SUMMARY	2
INTRODUCCION	3
MATERIAL Y METODOS	9
RESULTADOS	13
DISCUSION	24
BIBLIOGRAFIA	31
ANEXOS	33
AGRADECIMIENTOS	38

1. RESUMEN

Con el propósito de evaluar la excreción urinaria, diaria, de urea, creatinina y nitrógeno, se realizó un estudio en 12 vacas Holstein Friesian en lactancia; estabuladas permanentemente en un predio ubicado en la provincia de Valdivia (Chile) y sometidas a una dieta acorde a sus requerimientos, basada en ensilaje y concentrado.

La orina se recolectó, mediante la inducción de la micción por estimulación manual, cada 90 minutos y durante 2 periodos de 48 horas. El volumen se determinó, cada 3 horas, empleando un cilindro graduado; la densidad, mediante un refractómetro Atago SPR-T12; las concentraciones de urea y de creatinina, utilizando un fotocolorímetro Hitachi 4020, según los métodos colorimétricos de ureasa Berthelot (modificado) y de Jaffé respectivamente; la excreción de urea y de creatinina se calcularon con los valores de concentración, volumen y peso molecular; el CFU, utilizando los valores de concentración de urea y concentración de creatinina correspondientes y la excreción de nitrógeno, empleando el sistema Micro-Kjeldhal. Se aplicó estadística descriptiva (promedio \pm E.E.); análisis de varianza (ANDEVA) con un nivel de confianza del 95 % ($P < 0,05$) y se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson (r) ($P < 0,05$) entre diferentes variables.

El volumen urinario fue de 938 ± 14 ml/hora; siendo éste mayor entre las 02 y 05 horas y encontrándose una asociación significativa ($P < 0,05$) con la cantidad de urea excretada por la orina ($r = 0,76$). La densidad fue de $1,029 \pm 0,0002$; presentando variaciones durante las 24 horas del día. La urea tuvo una concentración de $305 \pm 2,7$ mmol/l y una excreción de $16,8 \pm 0,23$ g/hora; presentando variaciones durante las 24 horas del día, con relación al volumen urinario. La creatinina presentó una concentración de $5,08 \pm 0,06$ mmol/l y una excreción de $0,52 \pm 0,01$ g/horas; siendo estable entre las 08 y 20 horas su concentración y durante las 24 horas del día su excreción. El CFU fue de $62,91 \pm 0,87$ mmol/l; siendo más estable entre las 08 y 20 horas y aumentando entre las 23 y 02 horas. La excreción de nitrógeno urinario (N-urinario) fue de $230 \pm 4,3$ g/día, correspondiendo el $82,1 \pm 0,9$ % a nitrógeno de la urea. La excreción de urea fue mas representativa de la excreción diaria de N-urinario ($r = 0,83$, $P < 0,05$) que las otras variables analizadas. El CFU, también presentó asociación con la excreción diaria de N-urinario ($r = 0,44$, $P < 0,05$).

Palabras Claves: Urea, Creatinina, Nitrógeno, Orina, Vacas lecheras.

2. SUMMARY

Urinary excretion of urea, creatinine and nitrogen from lactating dairy cows

A study was done in order to evaluate urinary urea, creatinine and nitrogen daily excretion from twelve Holstein Friesian lactating cows. The animals belong to a dairy farm located near Valdivia, Chile. They were kept tied indoor, fed twice a day with a diet based on silage and concentrate, according to their requirements.

Total urine produced was collected by urination induced through manual stimulation, at 90-minute intervals and for 4 days. Total Volume produced each 3 hours was determined using a graduated glass. Urine samples obtained from the previous 3 hours were kept to be analysed. Specific gravity was determined using an Atago SPR-T12 refractometer. Urea and creatinine concentrations were measured by cholonmetric methods. Urea and creatinine excretions were calculated according with their concentrations and volume of urine produced. CFU (urea fractional clearance) was established from corresponding values of urea and creatinine. Nitrogen daily excretion was determined using a Micro-Kjeldhal system. Data were analysed by descriptive statistic (average \pm S.E.) and ANOVA test with a confidence level of 95% ($P < 0,05$); furthermore, Pearson correlation coefficients between the parameters were also calculated.

Urinary volume was 938 ± 14 ml/hr; it was larger from 02:00 A.M. to 05:00 A.M. and associated to the quantity of urea excreted by the urine ($r=0,76$; $P < 0,05$). Specific gravity was $1,029 \pm 0,001$; it presented variations all day over. Urea concentraron and excretion were $305 \pm 2,7$ mmol/l and $16,8 \pm 0,23$ g/hour, respectively; its presented variations over day in relation with urinary volume. Creatinine concentraron was $5,08 \pm 0,06$ mmol/l and creatinine excretion was $0,52 \pm 0,01$ g/hr; its concentration was constant from 8:00 AM to 20:00 PM and it excretion constant during all day. CFU was $62,91 \pm 0,87$ mmol/l; it was steady from 8:00 AM to 20:00 PM and became larger through the night. Urinary nitrogen excretion was $230 \pm 4,3$ g/day, with urea nitrogen representing $82,1 \pm 0,9\%$ of this figure. Daily urea excretion and also during a 3 hr period had the highest association with daily excretion of urinary nitrogen ($r=0,83$; $P < 0,05$). CFU values obtained from morning urine samples also presented an association with the daily excretion of urinary nitrogen ($r=0,44$; $P < 0,05$).

Key words: Urea, Creatinine, Nitrogen, Uriñe, Dairy cows.

3. INTRODUCCION

3.1.- EL NITROGENO EN LA NUTRICION DE LOS RUMIANTES.

El nitrógeno es un elemento fundamental dentro de la nutrición de los rumiantes. Estos pueden sintetizar proteínas a través de su flora microbiana, a partir de nitrógeno proteico o no proteico (Church, 1988).

El nitrógeno de origen alimentario es cuantitativamente el aporte más importante de los que llegan al rumen, sin embargo, las células muertas pueden aportar hasta 100 g diarios de nitrógeno en animales adultos. Otros aportes de nitrógeno se generan a partir del reciclado de urea a través de la saliva y de la urea que difunde desde la sangre a través de la pared del rumen (Bondi, 1988). Según Ibarra (1997), estos últimos aportes, no son tan importantes en animales alimentados con niveles suficientes de proteínas.

Las proteínas ingeridas son degradadas por proteasas bacterianas hasta péptidos, éstos hasta aminoácidos libres y finalmente a amoníaco que es utilizado para la síntesis de proteínas por las células microbianas. Parte de este amoníaco no puede ser fijado por los microorganismos y difunde a la circulación, llegando al hígado, donde se transforma en urea (Wallace, 1991). La mayor parte de esta urea es excretada por la orina y aproximadamente un 20 % es reciclada al rumen. Esta urea también es descompuesta en el rumen, por bacterias, para la formación de proteínas microbianas (Bondi, 1988).

Cerca de un 70 % del nitrógeno disuelto en el rumen, es nitrógeno amoniacal (Bondi, 1988) y su concentración máxima se alcanza entre 1 y 2 horas después de la alimentación (Hoover y Stokes, 1991).

3.2.- FUNCION RENAL Y FORMACION DE LA ORINA.

El riñón es el principal órgano de excreción y juega un papel decisivo en la regulación del metabolismo; desempeñando, según Kolb y col. (1974), tres funciones básicas:

- Regulación del contenido salino e hídrico del organismo, aumentando o disminuyendo la excreción de agua y electrolitos.
- Mantenimiento de la osmolaridad, pH, y volumen de la sangre.

- Excreción de sustancias extrañas al organismo, así como de las fisiológicas, en particular productos finales tóxicos del metabolismo.

Como órgano de excreción, el riñón desempeña su función mediante la formación de orina. El primer paso en la formación de la orina, es el filtrado glomerular, que tiene una composición semejante al plasma, pero con pocas proteínas ya que las macromoléculas no atraviesan la pared de los capilares. El filtrado pasa a la cápsula de Bowman y de ésta al túbulo contorneado proximal donde comienzan los procesos de reabsorción y excreción. El túbulo reabsorbe toda la glucosa y además reabsorbe cloruro de sodio (NaCl), agua, aminoácidos, proteínas y ácido ascórbico. Luego el filtrado continúa por el Asa de Henle, cuya porción descendente es permeable al agua y al sodio (Na); como el líquido intersticial de la zona medular del riñón es hipertónico se excreta Na y se reabsorbe agua. La porción ascendente es impermeable al agua y reabsorbe activamente Na. Luego el filtrado pasa al túbulo contorneado distal, el que reabsorbe activamente Na y agua, estimulado por la hormona aldosterona; se añaden iones hidrógeno y amonio (pH) y finalmente el filtrado se va hacia el túbulo colector donde se realiza el ajuste final de la cantidad de agua en la orina (Junqueira y Carneiro, 1987).

El riñón mantiene la velocidad de filtración glomerular dentro de un rango fisiológico por una modulación de la presión sanguínea sistémica y del volumen intravascular; asimismo, por un control intrínseco del flujo sanguíneo renal, de la presión capilar glomerular y del coeficiente de ultrafiltración. Dichos efectos sistémicos, se encuentran mediados por factores hormonales, siendo los más importantes el sistema renina-angiotensina-aldosterona; además, están involucrados el reflejo miogénico y de retroalimentación tubuloglomerular, la vasopresina, glucocorticoides y progesterona (Cunningham, 1992).

La orina recogida por los túbulos colectores confluye en los cálices menores y mayores y después, es transportada a los uréteres gracias a las contracciones de los músculos de la pared de la pelvis. Por inervación simpática éstos presentan contracción peristáltica cada 15 a 60 segundos, las que conducen la orina hasta la vejiga. El ritmo de las contracciones de los uréteres está en relación con la cantidad de orina que les llega (Kolb y col., 1974). El volumen de la orina depende del filtrado glomerular, la reabsorción y de la excreción extraglomerular (Cunningham, 1992).

Los túbulos colectores reabsorben activamente NaCl, pero su contribución más importante para la hipertonicidad medular, es la reabsorción de urea. La parte terminal es muy permeable a la urea, permeabilidad que aumenta por la hormona antiurética; así la urea se conserva en el fluido tubular hasta que llega al túbulo colector terminal, en la parte profunda de la médula. Cuando las condiciones demandan un aumento en la conservación del agua, se promueve la reabsorción de urea. El extremo ascendente delgado del Asa de Henle es permeable a la urea, mientras que los segmentos tubulares que intervienen entre el extremo ascendente delgado y el túbulo colector terminal son impermeables. De esta forma, la urea es

reabsorbida del túbulo colector terminal, reciclándose de regreso a éste (Cunningham, 1992).

3.3.- MICCION Y VOLUMEN DE ORINA.

Los impulsos que estimulan la micción nacen de las terminaciones nerviosas sensitivas de la pared de la vejiga causados por su distensión. Los impulsos excitatorios no siguen únicamente las vías que inervan directamente la pared de la vejiga, sino que afectan también a todas las fibras sensitivas y motoras de los órganos pélvicos y de la porción de los miembros posteriores que intervienen en el acto de la micción. Por lo anteriormente descrito, se comprende la estimulación manual de la zona perineal como estímulo de la micción (Kolb y col., 1974).

Las vacas orinan 5 a 8 veces al día, un volumen total de 6 a 12 litros, o aproximadamente 1 ml/kg/h (Rosenberger, 1979).

La colección de orina por 24 horas puede realizarse mediante un arnés especial que permite registrar la frecuencia de micción y el volumen de orina. La orina también puede ser colectada desde hembras bovinas durante la micción espontánea o inducida por estimulación manual de la vulva o del periné, o bien mediante masaje rectal de la vejiga (Rosenberger, 1979; Gonda y Lindberg, 1994).

Fleming y col. (1991) realizaron un estudio con 7 vacas Holstein sanas, en las que obtuvieron, mediante catéter urinario, 4 muestras de orina de seis horas consecutivas cada una. El total de orina recolectada fue de 4515 - 7130 ml/día.

El volumen de orina producido muestra cambios durante el día, variación que se asocia al régimen de alimentación. En un ensayo en novillos, alimentados una y dos veces en el día, se apreció que los volúmenes de orina producidos durante el día fluctuaron entre 227 y 437 ml/hora en los animales con alimentación única y entre 228 y 447 ml/hora en los animales alimentados dos veces al día (Chen y col., 1992).

3.4.- COMPUESTOS NITROGENADOS (UREA Y CREATININA) EN LA ORINA.

De los residuos animales, la orina es la fuente más importante de eliminación de nitrógeno, por la urea que contiene (Oldham y Tamminga, 1995).

Bristow y col. (1992) describieron que el nitrógeno total de la orina de vacas fue de 6,8 a 21,6 g/l. Dentro de los productos finales del metabolismo de los compuestos nitrogenados se presentaron las siguientes proporciones: 69 % urea,

7,3 % alantoína, 5,8 % ácido hipúrico, 3,7 % creatinina, 2,5 % creatina, 1,3 % ácido úrico, 0,5 % xantina más hipoxantina, 1,3 % aminoácidos libres y 2,8 % amonio.

La excreción urinaria de urea es afectada por la dieta y el régimen de alimentación, mientras que la de la creatinina es afectada principalmente por la masa muscular y su metabolismo (Bondi, 1988). En relación a esto, Blake y col. (1980), encontraron una correlación significativa ($r = 0,60$) entre excreción urinaria de creatinina y peso corporal.

Como la urea presenta una circulación ruminohepática, sólo una parte de la que se produce en el hígado es eliminada en la orina. A ésta se agrega una secreción activa de urea en el túbulo, la que afecta el volumen urinario, provocando la extravasación de agua y de NaCl (Kolb y col., 1974).

La creatinina se filtra libremente y no es reabsorbida por el túbulo, además existe una secreción tubular adicional a esta filtración, siendo un 10% aproximadamente excretada por el túbulo (Cunningham, 1992).

En un estudio realizado en 17 novillos el coeficiente de excreción de creatinina fue de 0,33 mmol/Kg de peso corporal/día. El coeficiente de creatinina fue independiente de la ganancia de peso diaria, sin embargo se apreció una correlación positiva entre eliminación de orina diaria y el coeficiente de excreción de creatinina (Boehncke, 1980).

Un factor que afecta a la digestibilidad de las proteínas y por ende al balance nitrogenado, es el consumo diario de proteínas, existiendo una relación lineal entre ingesta de nitrógeno y digestibilidad (Cuadro 1). Loosli y McDonald (1969) afirman que cuando la ración contiene alta cantidad de proteínas la utilización del nitrógeno y de la urea es inferior a la que se obtiene con raciones hipoproteicas, por otra parte, Gonda y Lindberg (1994) señalan que la concentración de urea en orina se incrementa con el aumento en la ingesta de proteínas.

Cuadro 1: Excreción urinaria de nitrógeno según diferentes aportes proteicos (Church, 1988).

	% de Proteína Cruda en la dieta.			
	14,5	19,9	23,7	28,5
N Urinario (g/día)	23,7	37,3	55,3	80,0
N Retenido (g/día)	27,4	37,3	42,8	44,6
N Retenido (%)	32,6	33,8	31,1	26,4

En un ensayo, Gonda y Lindberg (1994) señalan que la excreción urinaria de creatinina no fue afectada por la ingesta de nitrógeno en el alimento. Sin embargo, Chen y col. (1992) señala que la concentración de creatinina en la orina mostró

cambios durante el día, variación que se asoció al régimen de alimentación. En novillos con diferente régimen de alimentación se apreció que la concentración de creatinina fluctuó entre 5,71 y 8,02 mmol/hora en los animales con alimentación única y entre 6,26 y 8,13 mmol/hora en los animales alimentados dos veces al día.

En vacas, las condiciones de estrés térmico aumentan la excreción de nitrógeno, debido al incremento en la excreción de creatinina por la orina, indicando que un incremento en el catabolismo del tejido muscular reduce la proporción de nitrógeno retenido. En vacas Holstein se midió la excreción de creatinina urinaria a diferentes condiciones de temperatura, dando los siguientes resultados: a 20°C = 2,35 g/100 kg.; a 30°C = 3,33 g/100 kg. y a 38°C = 3,87 g/100 kg (Kellaway y Colditz, 1975).

Investigaciones realizadas en el hombre y diversas especies animales han puesto de manifiesto que los coeficientes de excreción de muchos electrolitos son débiles por la noche. Como las concentraciones plasmáticas de muchas sustancias estudiadas no muestran diferencias significativas entre el día y la noche, dicha disminución se debe a una disminución de la filtración glomerular o a un aumento de la reabsorción tubular (Kolb y col., 1974).

El efecto de la hora de muestreo en la concentración de metabolitos urinarios ha sido analizado expresando los datos como proporción del valor del día, observándose diferencias entre los resultados obtenidos por hora de muestreo con los del valor diario. Como una tendencia general, los valores de urea y de creatinina fueron mayores durante el día que durante la noche (Gonda y Lindberg, 1994).

La edad también puede afectar la excreción de compuestos nitrogenados por la orina. La orina de los animales jóvenes presenta variaciones en la concentración de creatinina y contiene menos creatinina que la orina de los animales adultos (Cunningham, 1992).

Las variaciones diarias de excreción de urea son una limitante para su uso como indicador de la utilización del nitrógeno de la dieta, en muestras aisladas de orina. La excreción de creatinina, en cambio, varía significativamente entre individuos, pero no entre los periodos de recolección (Fleming y col., 1991). Sin embargo las diferencias en las variaciones de urea y creatinina limitaron el uso de esta relación, conocida como clearance fraccional de urea, en muestras simples de orina colectadas durante la noche. La relación urea/creatinina en orina ha dado una mejor estimación del total de nitrógeno urinario de una vaca que la determinación de urea en sangre o en leche (Ciszuk y Gebregziabher, 1994).

Cuando la concentración de alantoína o de derivados purínicos (DP) totales fueron expresados como proporción molar de creatinina en una misma muestra (por ejemplo alantoína: creatinina y DP:creatinina) la influencia del tiempo fue reducida con

valores casi constantes. Los resultados también indican que muestras de orina tomadas entre las 15 y 20 horas tienden a dar una mejor representación del valor diario (Chen y col., 1992).

Como la urea es el compuesto nitrogenado más importante de la orina y su determinación, en muestras de ella, es simple; se plantea que su uso para estimar la excreción diaria de nitrógeno urinario posee un alto valor. Por otra parte, la creatinina se mantiene más estable en sus concentraciones, que la urea. En consecuencia, se plantea que el Clearance Fraccional de urea (urea/creatinina) sería un buen sistema para corregir dichas variaciones.

El análisis de las variables urinarias puede aportar antecedentes para determinar la representatividad que posee una muestra tomada en un momento del día para estimar la excreción diaria de nitrógeno total.

3.5.- OBJETIVOS.

El presente trabajo complementa una experiencia de trabajo de la tesis de Magister, "Efecto de la aplicación de diferentes Métodos de Cálculo de los aportes proteicos en vacas lecheras confinadas sobre variables productivas y metabolismo del Nitrógeno", permitiendo estimar la cantidad de nitrógeno excretado por el riñón en la orina de vacas Holstein Friesian en lactancia confinadas y sometidas a una dieta determinada de acuerdo a sus requerimientos.

Los objetivos específicos del presente estudio, en vacas Holstein Friesian en lactancia y estabuladas, fueron:

- 1.- Determinar en la orina, la cuantía y variación durante el día, del volumen, de la densidad, de la concentración y excreción de urea y creatinina y del clearance fraccional de urea.
- 2.- Determinar la excreción diaria de nitrógeno urinario.
- 3.- Establecer asociaciones entre los valores de excreción diaria de nitrógeno urinario con los de concentración y excreción de urea y clearance fraccional de urea

4. MATERIAL Y METODOS

4.1.- MATERIAL.

4.1.1.- Ubicación y periodo.

El presente estudio se realizó del 3 al 5 y del 18 al 20 de Febrero de 1997, en un predio lechero ubicado en la provincia de Valdivia, Chile, a 5 km al norte de la ciudad de Valdivia (paralelo 39° 47' latitud Sur y meridiano 73° 13' longitud Oeste).

El clima de verano, para la ubicación y período del estudio, corresponde a templado lluvioso o clima de costa occidental. Las temperaturas extremas en promedio, fueron de, 7,3 y 19,7°C para el primer periodo y de 9,5 y 22,1°C para el segundo. La pluviometría acumulada fue de 0,8 mm y de 0,0 mm, respectivamente¹.

4.1.2.-Animales.

Los animales fueron seleccionados de acuerdo a su producción lechera y fecha de parto. Se emplearon 12 vacas Holstein Friesian, clínicamente sanas, de $550 \pm 12,2$ kg de peso vivo promedio, de parto de otoño, con 120 a 150 días de lactancia y con una producción lechera promedio de $23 \pm 0,21$ l/día.

4.1.3.-Manejo.

Los animales se mantuvieron estabulados permanentemente en un galpón del predio, cuyas dimensiones eran de aproximadamente 15 por 30 m, y sujetos a puestos fijos mediante sistema de tijera. La cama era de aserrín y se les cambiaba durante los ordeños. Los animales tenían acceso a comederos y bebederos automáticos individuales.

El ordeño se realizó dos veces al día entre las 05 y 06 y entre las 16 y 17 horas. Para ello se sacaba a los animales de la estabulación y se llevaban a la sala de ordeño del predio.

4.1.4.- Dieta.

La dieta se basó en ensilaje de pradera permanente y concentrado elaborado en el predio. La relación de ensilaje : concentrado, fue de 65 : 35 %. El ensilaje se suministraba dos veces al día (08 y 17 horas), al retornar los animales del ordeño y el

¹ Registros climatológicos del Instituto de Geociencias de la Facultad de Ciencias de la Universidad Austral de Chile.

concentrado cuatro veces al día, durante y entre los ordeños. El consumo de agua fue ad libitum.

Los valores del consumo diario de proteína y de nitrógeno en los animales del estudio fueron obtenidos de los resultados del experimento que se realizó simultáneamente con los mismos animales y que fue de $3,12 \pm 0,04$ kg/vaca para la proteína y de 372 ± 39 g/vaca para el nitrógeno (Ibarra, 1997).

4.1.5.- Recolección y muestreo de orina.

La orina se obtuvo por estimulación manual en la zona perivulvar, induciendo la micción cada 90 minutos a objeto de evitar la micción natural, durante dos periodos de 48 horas y con un intervalo entre periodos de 15 días. Para la recolección se utilizó un recipiente que permitió determinar el volumen completo de cada micción. De estas recolecciones se guardaron muestra de ± 1 ml en tubos Eppendorf, las que fueron refrigeradas y llevadas al laboratorio. Además, se tomaron muestras acumulativas de los días, para cada vaca, en una proporción de un 3 % de las micciones y se guardaron en frascos plásticos, siendo posteriormente congeladas y llevadas al laboratorio.

4.2.- METODOS.

4.2.1.- Procesamiento de muestras.

De cada muestra se midió la densidad y se procedió a hacer una dilución, 1:50, con agua destilada en tubos Eppendorf. Las muestras diluidas fueron congeladas a -20 °C hasta su procesamiento en el Laboratorio de Patología Clínica del Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias de la Universidad Austral de Chile (U.A.Ch.). Las muestras acumulativas de cada día, congeladas, fueron llevadas al Laboratorio de Nutrición del Instituto de Producción Animal de la U.A.Ch

Para la determinación de la concentración de creatinina y de urea se procedió a juntar dos muestras diluidas, consecutivas, en una proporción similar a la de los volúmenes originales de cada muestra. De esta forma los valores de concentración de urea y de creatinina son expresados cada 3 horas.

4.2.1.1.- Determinación del volumen.

Se determinó el volumen de cada micción inducida, empleando para su recolección un cilindro graduado de 3.000 ml.

4.2.1.2.- Determinación de la densidad.

La densidad se determinó en la muestra sin diluir, previo a ser congelada mediante un refractómetro Atago SPR-T12.

4.2.1.3.- Determinación de urea.

4.2.1.3.1.- Concentración urinaria.

La concentración de urea se determinó en mmol/l, en las muestras diluidas 1:50 y correspondientes a la recolección de orina de 3 horas, mediante el método colorimétrico modificado de ureasa Berthelot², utilizando un fotocolorímetro Hitachi 4020.

4.2.1.3.2.- Cantidad excretada.

La cantidad de urea excretada cada 3 horas y diaria, expresada en gramos, se obtuvo utilizando los valores de concentración, de cada muestra, con sus respectivos volúmenes y el peso molecular (P.M.) de la urea, en la siguiente fórmula:

$$\text{Urea (g)} = \frac{\text{concentración urea (mmol/ml)} \times \text{volumen urinario (ml)} \times \text{P. M. urea (g/mol)}}{1.000}$$

4.2.1.4.- Determinación de creatinina.

4.2.1.4.1.- Concentración urinaria.

La concentración de creatinina se determinó en umol/l, en las muestras diluidas 1:50 y correspondientes a la recolección de orina de 3 horas, mediante el método colorimétrico de Jaffé³, empleando un fotocolorímetro Hitachi 4020.

4.2.1.4.2.-Cantidad excretada.

La cantidad de creatinina excretada cada 3 horas y diaria, expresada en gramos, se obtuvo utilizando los valores de concentración de cada muestra, sus respectivos volúmenes y el P.M. de la creatinina, en la siguiente fórmula:

$$\text{Creatinina (g)} = \frac{\text{concentración creatinina (umol/ml)} \times \text{volumen (ml)} \times \text{P. M. creatinina (g/mol)}}{1.000.000 \quad \text{orina}}$$

² Método modificado de ureasa Berteloth, Randox Catálogo N° UR 107

³ Metodo colorimétrico, Randox Catálogo N° CR 510

4.2.1.5.- Determinación del Clearance Fraccional de urea (CFU).

El CFU se determinó, para cada una de las muestras, utilizando los valores de concentración de urea y concentración de creatinina correspondientes, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{CFU} = \frac{\text{concentración de urea urinaria (mmol/l)}}{\text{concentración de creatinina urinaria (mmol/l)}}$$

4.2.1.6.- Determinación del nitrógeno urinario.

4.2.1.6.1.- Excreción diaria de nitrógeno urinario (N-urinario).

Se determinó la cantidad de N-urinario en 24 horas, utilizando las muestras de orina acumulada en el día y empleando el sistema Micro-Kjeldhal, según la metodología descrita por A.O.A.C. (1960). Dicho sistema entrega valores de concentración sobre la base de materia seca y volumen. Para obtener la cantidad de N-urinario se utilizaron los valores diarios de volumen correspondientes a cada muestra, en la siguiente fórmula:

$$\text{N-urinario (g)} = \text{concentración de N-urinario (g/ml)} \times \text{volumen orina (ml)}$$

4.2.1.6.2.- Excreción diaria de nitrógeno ureico (N-ureico).

El N-ureico excretado por la orina se determinó sobre la base de la relación existente entre el P.M. de la urea y el P.M. del nitrógeno que la compone, que es de 46,65 %. La cantidad de urea excretada se obtuvo previamente en gramos. Estos valores se utilizaron en la siguiente relación:

$$\text{N-ureico (g)} = \text{urea (g)} \times 0,4665$$

4.2.2. Análisis de los datos.

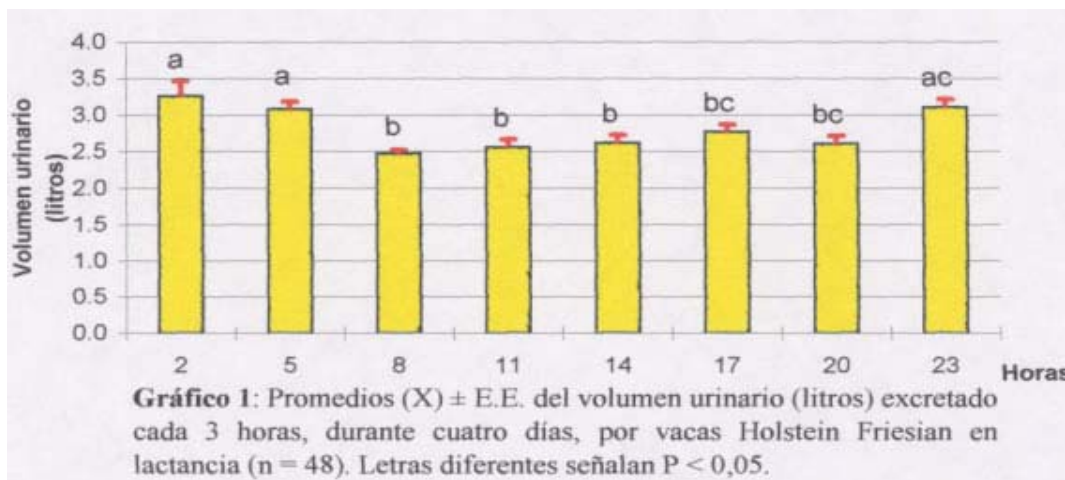
El análisis estadístico de los datos se realizó basándose en estadística descriptiva, utilizando el programa computacional Statistica for Windows 4.3, 1993. Para cada variable, se calculó el promedio y error estándar (E.E.) de los valores obtenidos en la orina de los 12 animales cada 3 y 24 horas y en los cuatro días del estudio. La diferencia entre horas y días se estableció con un análisis de varianza (ANDEVA), con un nivel de confianza del 95% ($P < 0,05$) y se aplicó el test de Duncan para determinar el nivel de significancia de las diferencias entre los promedios. Para establecer el grado de asociación se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson (r) entre las diferentes variables urinarias, considerándose significativas a $P < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1- Volumen de orina.

El volumen promedio de la excreción urinaria de las vacas del estudio fue de 938 ± 14 ml/hora, con un rango individual de 0 a 2.033 ml/hora y el promedio de la excreción diaria de orina fue de $22,5 \pm 0,5$ litros, con un rango individual de 15,4 a 29,5 litros.

Los valores promedios \pm E.E., del volumen urinario excretado cada 3 horas, durante los cuatro días del estudio, se presentan en el Gráfico 1.



El análisis de varianza de los promedios de volúmenes urinarios, de las doce vacas, cada 3 horas, muestra que hubo variación durante las 24 horas del día ($P < 0,05$), observándose que los volúmenes más altos se eliminaron entre las 23 y las 05 horas. El Cuadro 2 permite observar que no hubo variación entre los cuatro días del estudio ($P > 0,05$).

Cuadro 2 : Promedios (\bar{X}) \pm E.E. del volumen de orina y de la excreción de urea urinaria y creatinina urinaria durante cuatro días, de vacas Holstein Friesian en lactancia ($n = 12$).

VARIABLE		DÍA				General
		1	2	3	4	
Volumen (l/día)	X	23,0 ^a	23,5 ^a	21,7 ^a	21,8 ^a	22,5
	E.E. \pm	0,1	0,9	0,9	1,0	0,5
Urea (g)	X	385 ^a	406 ^a	408 ^a	414 ^a	403
	E.E. \pm	14	14	14	9	6,5
Creatinina (g)	X	13,36 ^a	12,21 ^{ab}	12,24 ^b	12,23 ^{ab}	12,51
	E.E. \pm	0,4	0,4	0,4	0,3	0,2

Letra diferente señala $P < 0,05$.

5.2.- Densidad de la orina.

La densidad promedio de la orina de las vacas del estudio fue de $1,029 \pm 0,0002$ con un rango individual de 1,015 a 1,037.

Los valores promedios \pm E. E. de la densidad urinaria, en las muestras obtenidas cada 3 horas, durante los cuatro días del estudio, se presentan en el Gráfico 2.

El análisis de varianza de los promedios de la densidad de la orina excretada cada 3 horas, de las doce vacas, muestra que hubo variación durante las 24 horas del día ($P < 0,05$). Se observan dos alzas, dichas alzas se presentaron en las muestras recogidas a las 11 y 20 horas, siendo el valor de las 20 horas mayor que el de las 11 horas. Los valores más bajos se registraron en las muestras obtenidas entre las 2 y 8 horas siendo el de la hora 5 el más bajo.

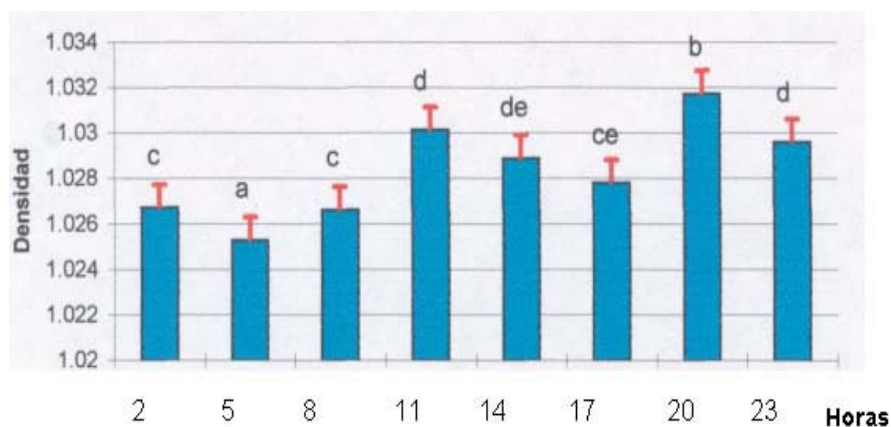


Gráfico 2: Promedios (\bar{X}) \pm E.E. de la densidad urinaria en muestras obtenidas cada 3 horas, durante cuatro días, de vacas Holstein Friesian en lactancia ($n = 48$). Letras diferentes señalan $P < 0,05$.

5.3.- Concentración de urea.

El valor promedio de la concentración urinaria de urea excretada por las vacas del estudio fue de $305 \pm 2,7$ mmol/l con un rango individual de 114 a 546 mmol/l.

Los valores promedios \pm E.E. de la concentración de urea en las muestras obtenidas cada 3 horas, durante los cuatro días del estudio, se presentan en el Gráfico 3.

El análisis de varianza de los promedios de la concentración de urea urinaria excretada cada 3 horas, de las doce vacas, muestra que hubo variación durante las 24 horas del día ($P < 0,05$). Se observan los valores más bajos a las 05 horas, éstos suben a las 11 horas y se mantienen casi estables, con una pequeña disminución a las 17 horas. A las 20 horas se presentan los valores más altos.

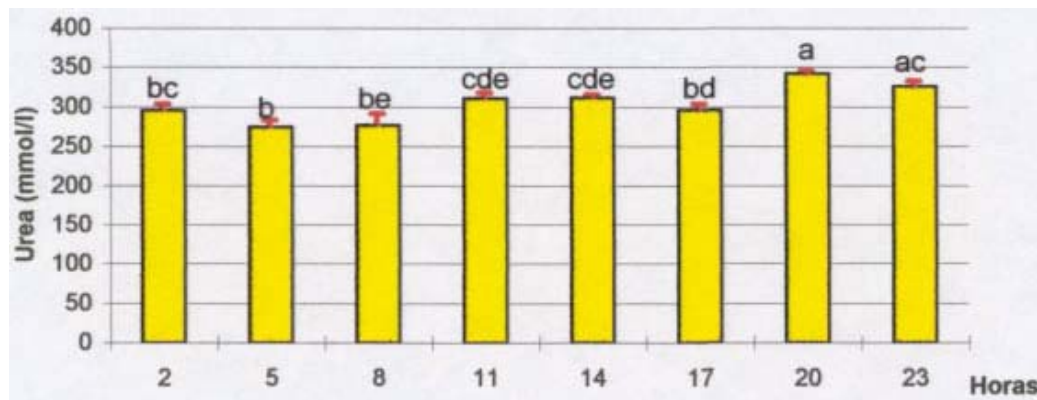


Gráfico 3: Promedios (\bar{X}) \pm E.E. de la concentración urinaria de urea (mmol/l) en muestras obtenidas cada 3 horas, durante cuatro días, de vacas Holstein Friesian en lactancia ($n = 48$). Letras diferentes señalan $P < 0,05$.

5.4.- Excreción de urea por la orina.

El valor promedio de la urea excretada por la orina de las vacas del estudio fue de $16,8 \pm 0,23$ g/hora con un rango individual de 0 a 39,9 g/hora y el promedio de la excreción diaria fue de $403,2 \pm 6,5$ g, con un rango individual de 288 a 459 g/día.

Los valores promedios \pm E. E. de la cantidad de urea excretada cada 3 horas, durante los cuatro días del estudio, se presentan en el Gráfico 4.

El análisis de varianza de los valores promedios de la excreción urinaria de urea, cada 3 horas, de las doce vacas, muestra que hubo variación durante las 24 horas del día ($P < 0,05$). El Cuadro 2 permite observar que no hubo diferencias en la cantidad de urea urinaria excretada entre los cuatro días del estudio ($P > 0,05$). Los valores más altos se observaron en las muestras recolectadas a las 02 horas, en las cuales se obtuvo valores de volumen urinario altos. Los valores más bajos se encontraron a las 08 horas, cuando los valores de volumen urinario son bajos.

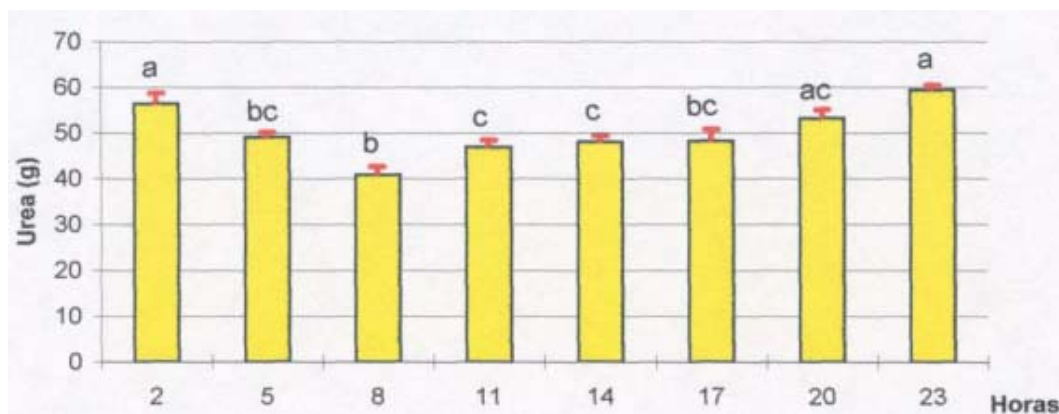


Gráfico 4: Promedios (\bar{X}) \pm E.E. de la urea excretada (g) cada 3 horas, durante cuatro días, en la orina de vacas Holstein Friesian en lactancia ($n = 48$). Letras diferentes señalan $P < 0,05$.

5.5.- Concentración de creatinina urinaria.

El valor promedio de la concentración urinaria de creatinina de las vacas sometidas al estudio fue de $5,08 \pm 0,06$ mmol/l con un rango individual de 1,2 a 9,6 mmol/l.

Los valores promedios \pm E. E. de concentración urinaria de creatinina en las muestras obtenidas cada 3 horas, durante los cuatro días del estudio, se presentan en el Gráfico 5.

El análisis de varianza de los promedios de la concentración urinaria de creatinina excretada cada 3 horas, de las doce vacas, muestra que hubo variación durante las 24 horas del día ($P < 0,05$). Los valores de concentración de creatinina más bajos, se observaron entre las 23 y 05 horas, dicha disminución coincidió con la hora en que se presentaron los volúmenes más altos de orina.

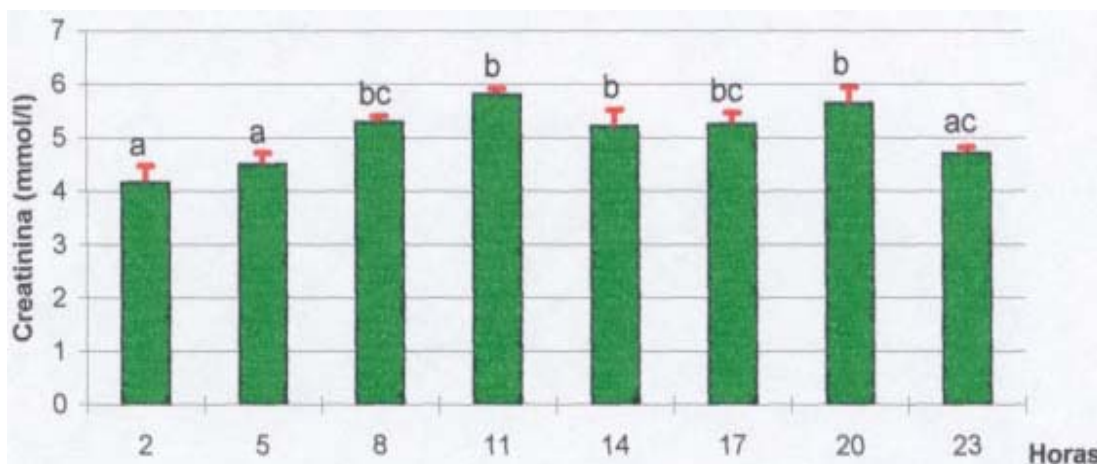


Gráfico 5: Promedios (\bar{X}) \pm E.E. de la concentrada de creatina (mmol/l) en muestras de orina obtenidas cada 3 horas, durante cuatro días, por vacas Holstein Friesian en lactancia ($n = 48$). Letras diferentes señalan $P < 0,05$.

5.6.- Excreción urinaria de creatinina.

El valor promedio de la excreción urinaria de creatinina por las vacas del estudio fue de $0,52 \pm 0,01$ g/hora, con un rango individual de 0 a 1,0 g/hora y el promedio de la excreción diaria fue de $12,51 \pm 0,19$ g, con un rango individual de 9,38 a 15,02g/día.

Los valores promedios \pm E. E. de la excreción urinaria de creatinina cada 3 horas, durante los cuatro días del estudio, se presentan en el Gráfico 6.

El análisis de varianza de los valores promedios de la excreción urinaria de creatinina cada 3 horas, de las doce vacas, muestra que dicha excreción fue constante durante las 24 horas del día ($P > 0,05$). El Cuadro 2 permite observar que hubo variación entre los cuatro días del ensayo ($P < 0,05$).

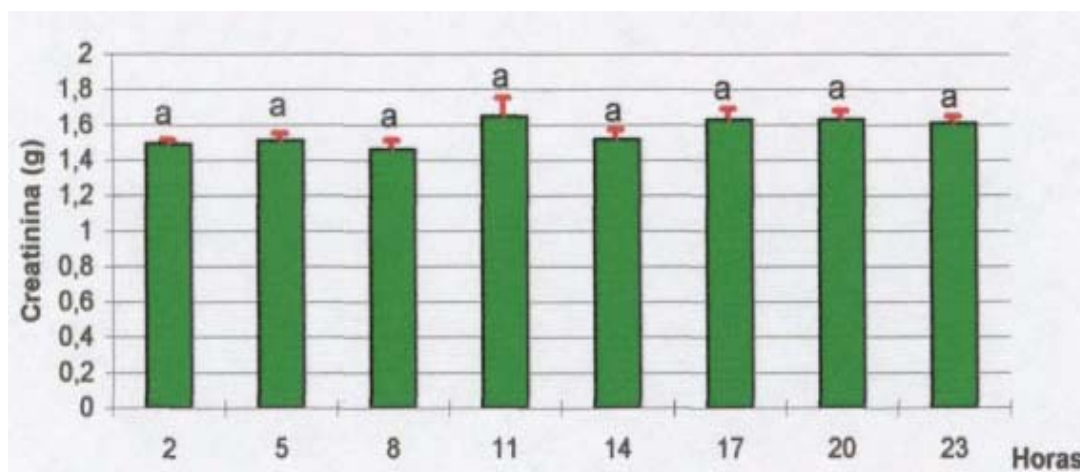


Gráfico 6: Promedios (\bar{X}) \pm E.E. de la creatinina excretada (g) cada 3 horas, durante cuatro días, por la orina de vacas Holstein Friesian en lactancia ($n = 48$). Letras diferentes señalan $P < 0,05$.

5.7.- Clearance Fraccional de Urea.

El valor promedio del CFU urinario de las vacas del estudio fue de $62,91 \pm 0,87$ mmol/l con un rango individual de 36,4 a 210 mmol/l.

Los valores promedios \pm E. E. del CFU en las muestras obtenidas cada 3 horas, durante los cuatro días del estudio, se presentan en el Gráfico 7.

El análisis de varianza de los promedios del CFU urinario cada 3 horas, de las doce vacas, muestra que hubo variación durante las 24 horas del día ($P < 0,05$). Los valores de CFU presentaron una variación menor que la presentada por la concentración de urea. Los valores de CFU más bajos se presentaron entre las 08 y 20 horas, manteniéndose constantes durante este período y los más altos se presentaron entre las 23 y 05 horas, siendo variables durante este período y coincidiendo con los valores de volumen más altos.

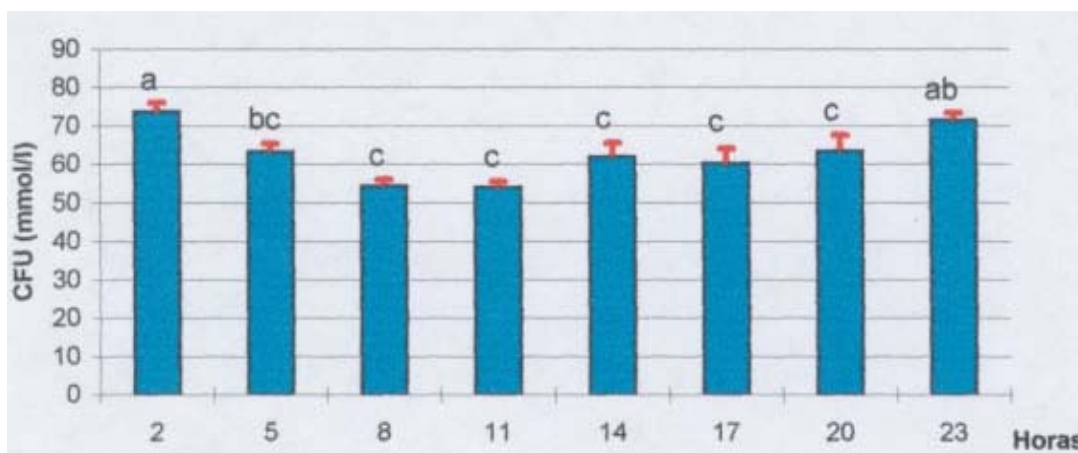


Gráfico 7: Promedios (\bar{X}) \pm E.E. del CFU (mmol/l), en muestras de orina obtenidas cada 3 horas, durante cuatro días, de vacas Holstein Friesian en lactancia ($n = 48$). Letras diferentes señalan $P < 0,05$.

5.8.- Excreción de N-urinario.

El valor promedio de la cantidad diaria de N-urinario excretado por las vacas del estudio fue de $230 \pm 4,3$ g/día, con un rango individual de 163 a 303 g/día.

Los valores de excreción de N-urinario y N-ureico permiten determinar el porcentaje de N-urinario que corresponde al N-ureico siendo el promedio de $82,1 \pm 0,9$ % con un rango individual de 68,3 a 96,9 %.

Los valores promedios \pm E.E. de la excreción diaria de N-urinario y N-ureico, con su relación porcentual en los cuatro días del estudio, se detallan en el Cuadro 3.

El análisis de varianza de los valores promedios de la excreción diaria de N-urinario, de las doce vacas, muestra que existió variación entre los días ($P < 0,05$). Lo mismo se observa para los porcentajes de N-ureico respecto al N-urinario.

Cuadro 3: Promedios \pm E.E. de la excreción diaria de N-urinario, N-ureico y la relación porcentual entre las dos variables durante cuatro días en vacas Holstein Friesian en lactancia (n=12).

Variable		DIA				General
		1	2	3	4	
N-urinario (g/d)	X	213,2 ^a	223,3 ^{ab}	236,2 ^{ab}	248,2 ^b	230,2
	E.E. \pm	7,3	8,2	8,6	7,3	4,3
Nureico(g/d)	X	179,7 ^a	189,4 ^a	190,4 ^a	192,9 ^a	188,1
	E.E. \pm	6,7	6,3	6,5	4,1	2,9
N-urinario/N-ureico (%)	X	84,4 ^a	85,1 ^a	80,8 ^{ab}	78,0 ^b	82,1
	E.E. \pm	2,1	1,8	1,1	1,1	0,9

Letra diferente señala $P < 0,05$.

5.9.- Correlaciones.

El análisis de los coeficientes de correlación (r) entre las variables urinarias de las vacas del estudio, permitió observar asociaciones significativas ($P < 0,05$) positivas del volumen con la excreción de urea, la excreción de creatinina, la excreción de N-urinario y el CFU; negativas con la densidad, la concentración de urea y la concentración de creatinina. Asociaciones significativas ($P < 0,05$) positivas de la densidad con la concentración de urea, la concentración de creatinina y la excreción de N-urinario. Asociaciones significativas ($P < 0,05$) positivas de la concentración de urea con la excreción de urea, la concentración de creatinina, el CFU y la excreción

de N-urinario. Asociaciones significativas ($P < 0,05$) positivas de la excreción de urea con la excreción de creatinina, el CFU y excreción de N-urinario y negativas con la concentración de creatinina. Asociación significativa ($P < 0,05$) positiva de la concentración de creatinina con la excreción de creatinina y negativa con el CFU. Asociación significativa ($P < 0,05$) negativa de la excreción de creatinina con el CFU y finalmente asociación significativa ($P < 0,05$) positiva del CFU con la excreción de N-urinario (Cuadros 4 y 5).

El análisis estadístico de los coeficientes de correlación entre la excreción diaria de N-urinario y las diferentes variables urinarias en las diferentes horas de muestreo, permitió observar que la excreción de urea presentó un mayor coeficiente de correlación promedio con la excreción de N-urinario ($r = 0,38$) que el CFU ($r = 0,25$) y la concentración de urea ($r = 0,23$). En el Cuadro 5 se puede observar que entre las 05 y 14 horas se produjeron las más altas correlaciones.

Los coeficientes de correlación entre las diferentes variables urinarias de las vacas del estudio, se detallan en los Cuadros 4 y 5.

Cuadro 4: Coeficientes de correlación (r) entre diferentes variables urinarias de vacas Holstein Friesian en lactancia ($n=12$), calculados de valores de muestras de orina recolectada cada 3 horas, durante cuatro días.

Variable	Densidad	Concentración de urea	Excreción de urea	Concentración de creatinina	Excreción de creatinina	CFU	Excreción de N-urinario
Volumen	-0,49 *	-0,43 *	0,76*	- 0,46 *	0,57*	0,16*	0,32*
Densidad		0,79*	0,03	0,53*	0,00	-0,03	0,34*
Concentración de urea			0,23*	0,51*	0,02	0,13*	0,32*
Excreción de urea				- 0,17 *	0,63*	0,29*	0,83*
Concentración de creatinina					0,42*	- 0,70*	-0,16
Excreción de creatinina						- 0,47*	0,28
CFU							0,44*

* Significa $P < 0,05$.

Excreción de urea = cantidad de urea excretada por la orina.

Excreción de creatinina = cantidad de creatinina excretada por la orina.

Excreción de N-urinario = Cantidad total de nitrógeno excretado por la orina.

Para las correlaciones con excreción de N-urinario se emplearon valores diarios.

Cuadro 5: Coeficientes de correlación (r) entre la excreción diaria de N-urinario con la concentración de urea, la excreción de urea y el CFU en muestras de orina obtenidas cada 3 horas durante cuatro días de vacas Holstein Friesian en lactancia (n=12).

Variable	Hora							
	2	5	8	11	14	17	20	23
Concentración de Urea	0,15	0,31*	0,15	0,41*	0,32*	0,21	0,13	0,17
Excreción de Urea	0,54*	0,41 *	0,42*	0,54*	0,56*	-0,10	0,21	0,46*
CFU	-0,03	0,39*	0,34*	0,36*	0,19	0,24	0,41*	0,13

Significa $P < 0.05$.

Excreción de urea = cantidad total de urea excretada por la orina.

6. DISCUSION

6.1.- VOLUMEN DE ORINA.

El promedio general de volumen urinario, excretado por las vacas del estudio (938 ± 14 ml/hora) fue mayor que el descrito por Rosenberger (1979) de 550 ml/hora y mayor que los encontrados en vaquillas por Kellaway y Colditz (1975) de 619 ml/hora, y Chen y col. (1992), de 228 a 447 ml/hora, sin embargo, estuvo dentro del rango de referencia para la especie descrito por Kaneko y col. (1997) de 390 a 1.031 ml/hora.

En el Gráfico 1 se puede observar que los volúmenes más altos se eliminaron durante la noche, entre las 23 y 05 horas, situación que no se corresponde con la afirmación de Kolb y col. (1974) que dice que el débito urinario en diversas especies de animales domésticos es menor durante la noche. Chen y col. (1992) en su experiencia observó que las vacas orinaron un mayor volumen durante el día (entre las 08 y 16 horas para vacas alimentadas únicamente en esas horas). Sin embargo, cabe recordar que los bovinos, dentro de su comportamiento natural presentan una mayor actividad durante la noche que durante el día y es posible que dicha situación haya sido dominante en este caso.

Las causas del elevado volumen urinario pueden deberse a diversos factores. Un factor importante es el estado fisiológico. La producción de leche provocó un aumento en la ingesta de agua generando un aumento en el volumen de orina excretada (Bondí, 1988).

Según los requerimientos de proteínas, dados para vacas en la zona sur de Chile por Anrique (1985), el contenido proteico de la dieta fue alto. Al respecto, Bondi (1988) señala, que el aumento en el contenido proteico de la dieta origina un aumento en el volumen urinario. Esto se explica por un aumento en la excreción de urea (Gonda y Lindberg, 1994), que provoca una diuresis osmótica (Kolb y col., 1974). Loosli y McDonald (1969) afirman que las vacas de alto rendimiento utilizan la urea menos eficazmente que las de bajo rendimiento, aumentando la excreción de urea. El presente estudio mostró una asociación significativa* ($r = 0,76$) entre volumen de orina y excreción de urea (Cuadro 4), en concordancia con dicha afirmación.

Según Bondi (1988), un factor que también afecta el volumen urinario es la temperatura ambiental. Kellaway y Colditz (1975) en un experimento con vacas Friesian observaron una relación entre temperatura, ingesta de agua y volumen urinario, aumentando el volumen urinario con el aumento de la temperatura ambiental.

En el presente estudio, los animales fueron sometidos a estabulación permanente en periodo estival y necesitaron eliminar calor mediante una mayor ingesta de agua, lo que provocó un aumento en el volumen de la micción.

6.2.- DENSIDAD DE LA ORINA.

El promedio general de la densidad de la orina excretada por las vacas del estudio ($1,029 \pm 0,0002$) estuvo dentro del rango de referencia de 1,025 a 1,045 dado por Kaneko y col. (1997). No obstante, dicho valor fue bajo debido al alto volumen de orina excretado. La densidad presentó una correlación significativa y negativa con respecto al volumen de $r = - 0,49$ (Cuadro 4).

Los valores de densidad más bajos se registraron en las muestras obtenidas entre las 02 y 08 horas (Gráfico 2) coincidiendo con las horas en las que se recolectaron volúmenes de orina superiores al promedio y con los momentos previos a la alimentación. Los valores de densidad mayores coincidieron con valores de volumen bajos (bajo el promedio general).

Las alzas de las 11 y 20 horas fueron posteriores a la alimentación de las vacas, esto estaría dado por un aumento en la concentración de la urea urinaria y de otros metabolitos producto de la digestión. La alta asociación que hubo entre la densidad y la concentración de urea en la orina puede respaldar dicha afirmación. El alza de las 08 horas se explicaría por la entrega de concentrado durante el ordeño. Posterior a cada alza, exceptuando la de las 08 horas, la densidad comienza a disminuir.

Los valores de densidad presentaron un coeficiente de correlación significativo con respecto a la urea, a la concentración de creatinina y a la excreción de nitrógeno. Dichas correlaciones, fueron dadas porque la mayor parte de los solutos en la orina son compuestos nitrogenados y de ellos el más importante es la urea.

6.3.- CONCENTRACION DE UREA URINARIA.

El promedio general de la concentración de urea en la orina de las vacas del estudio ($305 \pm 2,7$ mmol/l) fue mayor que los obtenidos por Gonda y Lindberg (1994) con dietas altas en proteínas (162 a 179 mmol/l).

La concentración de urea urinaria presentó variación durante las 24 horas del día. Los valores más bajos se presentaron a las 05 horas (Gráfico 3) y luego comenzaron a subir hasta las 11 horas. Los valores más altos se presentaron a las 20

horas, debido a que el tiempo transcurrido desde la última entrega de alimentos fue menor y pudo quedar un importante nivel de urea circulando. Los valores comenzaron a bajar a partir de las 20 horas hasta las 05 horas del día siguiente, presentándose un leve aumento a las 08 horas, debido a la entrega de concentrado durante el ordeño y a la disminución de los valores de volumen urinario evitando que se presentara, como se esperaba, un alza más marcada en la concentración de urea urinaria posterior a la primera entrega de alimento. El alza de las 20 horas se mantuvo por aproximadamente 3 horas y luego bajó, coincidiendo con lo descrito por Bondi (1988).

Los valores de concentración de urea más bajos, coincidieron con valores de volúmenes urinarios altos y los valores de concentración de urea más altos, con valores de volúmenes urinarios bajos. Al respecto se observó una asociación significativa y negativa entre el volumen de orina y la concentración de urea, con un coeficiente de correlación de $r = -0,43$ (Cuadro 4).

6.4.- EXCRECION DE UREA POR LA ORINA.

El rango de referencia de excreción de urea en la orina de bovinos, es de 27 a 33 g de urea/día (Kaneko y col, 1997). El promedio de la urea excretada durante el día por las doce vacas del estudio estuvo sobre este rango ($403 \pm 6,5$ g de urea/día). Dicha diferencia pudo deberse a que las vacas fueron sometidas a una dieta alta en proteínas, determinando una mayor excreción de N-urinario, sobre todo como urea, y se apoya en la correlación positiva y significativamente alta entre la excreción diaria de urea y la excreción diaria de N-urinario $r = 0,83$ (Cuadro 4). En su experimento, Gonda y Línberg (1994) observaron un aumento de la excreción de la urea urinaria con un aumento de las proteínas en la dieta y, a la vez, un aumento del porcentaje de la excreción de N-ureico en la orina con respecto al N-urinario, de un 55 % a un 62 %.

En el Gráfico 4 se observa que hubo una variación de la excreción de urea durante las 24 horas del día. Los valores más bajos se observaron a las 08 horas, cuando hubo volúmenes de orina bajos y los más altos en las muestras recolectadas entre las 23 y 02 horas, cuando se obtuvieron valores de volumen urinario altos. Sin embargo, la variación de la excreción de urea durante el día estaría dada, en mayor medida, por los períodos de alimentación, observándose que la urea comenzó a subir después de cada alimentación. El alza posterior a la segunda alimentación fue mayor que el alza después de la primera, debido a que el tiempo posterior a la última entrega de alimentos fue menor. Por esto mismo, después de la primera alimentación, se generó una disminución más sostenida de la excreción de urea urinaria, lo que explica los bajos valores a las 08 horas.

La temperatura ambiental podría ser un factor importante; al respecto Kellaway y Colditz (1975) observaron en vaquillas Friesian que a mayor temperatura se retiene

menos nitrógeno y aumenta la urea en la orina; lo mismo podría haber ocurrido en las vacas del estudio.

6.5.- CONCENTRACION DE CREATININA URINARIA.

El promedio general de la concentración de creatinina excretada en las vacas del estudio ($5,08 \pm 0,06$ mmol/l) fue menor a los encontrados por Chen y col. (1992) en vaquillas Holstein Friesian de 6,26 a 8,13 mmol/l.

Los valores de concentración de creatinina más bajos (Gráfico 5) coinciden con las horas en que se presentan volúmenes altos de orina. El coeficiente de correlación entre estas dos variables es $r = - 0,46$ (Cuadro 4).

La concentración de creatinina fue estable y mayor entre las 08 y 20 horas, que entre las 23 y 05 horas, señalando una independencia con el régimen de alimentación (Bondi',1988); lo mismo encontraron Gonda y Lindberg (1994). Podría ser que el alza durante el día se corresponda con el ejercicio muscular que involucra el ordeño y la alimentación, puesto que al estar estabuladas esta es la única posibilidad de movimiento que poseen. Por el contrario, Chen y col. (1992) observó una relación mas directa entre la concentración de creatinina y el régimen de alimentación con valores bajos previos a la alimentación y altos posteriormente a ella y además, valores altos entre las 24 y 08 horas. La diferencia de resultados con Chen y col. (1992) podría ser debido al mayor efecto que ejerce el volumen hacia la concentración de creatinina en el presente estudio.

6.6.- EXCRECION DE CREATININA POR LA ORINA.

El promedio general de la creatinina excretada por la orina de las vacas del estudio ($0,52 \pm 0,01$ g/hora) fue similar al encontrado por Kellaway y Colditz (1975) en vaquillas Holstein Friesian de 0,54 g/hora y superior al rango de referencia descrito por Kaneko y col. (1997) para la especie de 0,34 a 0,46 g/hora. El valor de excreción urinaria de creatinina se considera levemente alto en comparación al que presenta la urea.

La excreción de creatinina se mantuvo estable a través del día (Gráfico 6), en concordancia con lo encontrado por Fleming y col. (1991), demostrando que la creatinina no manifestó una alteración por el efecto de la alimentación, ya que su metabolismo depende del metabolismo de ciertos aminoácidos y principalmente de los músculos (Bondi, 1988).

Tratándose de vacas adultas, es posible que el peso sea un factor influyente en la excreción de la creatinina por la orina. Blake y col. (1980) encontraron una correlación positiva entre el peso del animal y la excreción de creatinina.

La temperatura puede ser otro factor influyente en que los valores se encuentren elevados. Kellaway y Colditz (1975) encontraron que el estrés térmico aumenta el catabolismo del tejido muscular y este aumenta la excreción de creatinina, lo cual puede haber influido en los valores de creatinina levemente altos que se obtuvieron en el estudio.

6.7.- CLEARENCE FRACCIONAL DE UREA.

El Gráfico 7 permite observar que los valores de CFU tuvieron una variación durante las 24 horas del día; fueron estables entre las 08 y 20 horas y aumentaron entre las 23 y 02 horas, coincidiendo con los valores de volumen urinario más altos.

El coeficiente de correlación entre CFU y excreción diaria de N-urinario, fue de $r = 0,44$; el cual fue significativo a $P < 0,05$ y mayor que el que presentaron las concentraciones de urea y creatinina (Cuadro 4), esto puede confirmar que el uso del CFU tiene un mayor valor predictivo de la excreción diaria de N-urinario que el uso de las concentraciones de urea y de creatinina por separado.

Cuando se buscó un coeficiente de correlación, entre cada muestra de CFU del día y la excreción diaria de N-urinario (Cuadro 5), se obtuvieron valores significativos en las muestras correspondientes a las 05, 08, 11 y 20 horas. Dichos resultados, permiten aseverar que, para el presente estudio, una muestra tomada a las 20 horas, que contiene la orina de 3 horas consecutivas fue la mas representativa de la excreción diaria de N-urinario. Las otras muestras (05, 08 y 11 horas) también presentaron correlaciones positivas mientras que ninguna muestra tomada durante la noche las presentó. Esto último se corresponde con la afirmación de Gonda y Lindberg (1994) de que el uso del CFU redujo las variaciones entre vacas con diferentes niveles de proteínas y horas de muestreo, sin embargo su uso en muestras tomadas durante la noche no fue tan eficaz. Para el presente estudio, en estos casos, la concentración de urea tuvo un valor superior, pero no significativo. Cabe agregar que para la muestra de las 11 horas, el valor de la concentración de urea fue mayor que el de CFU ($r = 0,41$).

6.8.- EXCRECION DE N-URINARIO.

El promedio general de la excreción diaria de N-urinario de las vacas del estudio fue alto ($230 \pm 4,3$ g/día), mayor que los encontrados por Kellaway y Colditz (1975) de 116 a 169 g/día, pero dentro del rango de referencia descrito por Kaneko y col. (1997) para la especie de 22 a 248 g/día.

En el Cuadro 3, los valores de excreción diaria de N-urinario y de N-ureico, permiten determinar el porcentaje de N-urinario que corresponde al N-ureico, dicho porcentaje fue similar para los dos primeros días y diferente para el último día, siendo el promedio de ellos de $82,1 \pm 0,9$ %. Este valor es superior a los encontrados por Gonda y Lindberg (1994) de 55 a 69 % y superior a la relación porcentual entre los valores máximos de N-ureico y los valores mínimos de N-urinario descritos por Kaneko y col. (1997).

Los altos valores de excreción diaria de N-urinario encontrados están dados por la gran cantidad de urea excretada por la orina. Se puede apreciar la importancia de la urea en la excreción del nitrógeno al analizar la relación porcentual entre ellos.

Los valores de la excreción de urea fueron más representativos de la excreción diaria de N-urinario, tanto por la relación porcentual, como por la alta correlación existente entre ellos (Cuadro 4). Cuando se relacionaron los valores cada 3 horas de la excreción de urea y los valores de excreción diaria de N-urinario los coeficientes de correlación fueron mayores, en la mayoría de los periodos de muestreo, que cualquier otro estimador posible para este estudio (Cuadro 5).

Según lo descrito anteriormente, la estimación de la excreción diaria de N-urinario es más exacta realizarla con valores de excreción de urea urinaria; sin embargo, es difícil utilizar esta variable, ya que no siempre se cuenta con el valor de volumen urinario y se desconoce la relación entre la excreción del N-ureico con la excreción del N-urinario.

Cuando se trabaja con concentraciones resulta más preciso estimar la excreción diaria de N-urinario a través del valor del CFU obtenido de muestras de orina de la mañana (08 - 11 horas), sin embargo, al utilizar esta variable se debe estimar el volumen de orina excretado durante el día.

6.9.- CONCLUSIONES.

En vacas Holstein Friesian en lactancia, confinadas y sometidas a las condiciones del estudio:

El volumen urinario fue de 938 ± 14 ml/hora (Promedio \pm E.E.); siendo este mayor durante la noche. La densidad urinaria fue de $1,029 \pm 0,0002$; presentando una variación durante las 24 horas del día.

La urea urinaria presentó una concentración diaria de $305 \pm 2,7$ mmol/l y una excreción diaria de $16,8 \pm 0,23$ g/hora; presentando variaciones, durante las 24 horas del día, con relación al volumen urinario.

La creatinina urinaria presentó una concentración diaria de $5,08 \pm 0,06$ mmol/l y una excreción diaria de $0,52 \pm 0,01$ g/hora; siendo estable entre las 08 y 20 horas su concentración y durante las 24 horas del día su excreción.

El CFU fue de $62,91 \pm 0,87$ mmol/l; siendo más estable entre las 08 y 20 horas y aumentando durante la noche.

La excreción diaria de N-urinario fue de $230 \pm 4,3$ g/día; correspondiendo el $82,1 \pm 0,9$ % de éste a N-ureico. Se presentó una elevada asociación con la excreción diaria de urea y no tan elevadas con los valores de CFU de muestras obtenidas entre las 5 y 11 horas.

7. BIBLIOGRAFIA

- ANRIQUE, R. G. 1985. Composición de Alimentos para el ganado en la Zona Sur. Oficina de planificación Agrícola y Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, (A.O.A.C). 1960. Official Methods of analysis. Washington D. C.
- BLAKE, R. W.; A. A. CUSTODIO; G. A. BRODERICK; W. A. LANDMANN; C. R. YOUNG. 1980. Relationships among feed intake, urinary creatinine, body protein turnover, and protein utilisation in Holstein and Jersey cows. Progress Report, Texas Agricultural Experimental Station
- BOEHNCKE, E. 1980. Creatinine excretion in veal calves, and endogenous creatinine clearance in young bulls. *Zbl.Vetmed. A 27:*, 421-428.
- BOEHNCKE, E.; G. MERGARDT; Y. FRICKE; S. ROSENBERGER. 1982. Relationship between urine colour and creatinine concentration in urine of cows. *Zbl Vetmed. A 29:* 337-344.
- BONDI, A. A. 1988. Nutrición Animal. Editorial Acribia. Zaragoza.
- BRISTOW, A. W.; D. C. WHITEHEAD; J. E. COCKBURN. 1992 Nitrogenous constituents in the urine of cattle, sheep and goats. *J. Sci. Food Agric. 59:* 387-394
- CHEN, X. B.; G. GRUBIC; E. R. ØRSKOV; P. OSUJI. 1992. Effect of feeding frequency on diurnal variation in plasma and urinary purine derivatives in steers. *Anim. Prod. 55:*185-191.
- CHURCH D. C.. 1984. Digestive physiology and nutrition of ruminants. Volume II. 2d ed., O & B Books, Inc. Oregon.
- CHURCH, C. D. 1988. El Rumiante: Fisiología digestiva y Nutrición. Editorial Acribia. Zaragoza.
- CISZUK, P.; T. GEBREGZIABHER. 1994. Milk urea as estimate of urine nitrogen of dairy cows and goats. *Acta Agric. Scand. Sect. S, Animal Sci. 44:* 87 - 95.
- CUNNINGHAM, J. 1992. Fisiología Veterinaria. Editorial Interamericana. Mc Graw-Hill. México D.F.

- FLEMING, S. A.; E. L. HUNT; J. E. RIVIERE; K. L. ANDERSON. 1991. Renal clearance and fractional excretion of electrolytes over four 6 hour periods in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 52: 5-8.
- GONDA, H. L.; J. E. LINDBERG. 1994. Evaluation of Dietary Nitrogen Utilisation in Dairy Cows Based on Urea Concentrations in Blood, Urine and Milk, and on Urinary Concentration of Purine Derivatives. *Acta Agric. Scand., Sect. A, Animal Sci.* 44: 236 - 245.
- HOOVER, W. H.; R.P. STOKES. 1991. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *J. Dairy Sci.* 74: 3630 - 3644.
- IBARRA, D. R. 1997. Efecto de la aplicación de diferentes Métodos de Cálculo de los aportes proteicos en vacas lecheras confinadas sobre variables productivas y metabolismo del Nitrógeno. Tesis, Mg. Cs. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. Chile.
- JUNQUEIRA, L. C., J. CARNEIRO. 1987. *Histología Básica*. Salvat Editores. Barcelona.
- KANEKO, J. J.; J. W. HARVEY; M. L. BRUSS. 1997. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Academic Press. San Diego.
- KELLAWAY, R. C.; P. J. COLDITZ. 1975. The effect of heat stress on growth and nitrogen metabolism in Friesian and F1 Brahmán x Friesian heifers. *Aust. J. Agric. Res.* 26:615-622.
- KOLB E., H. GÜNTLER; H. A. KETZ; L. SHRODER; H. SEIDEL. 1974. *Fisiología Veterinaria*. Volumen II. Editorial Acribia. Zaragoza.
- LOOSLI, J. K.; Y. W. MCDONALD. 1969. El Nitrógeno no proteico en la nutrición de los rumiantes. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Interprint. Malta.
- OLDHAM, J.; Y. TAMMINGA. 1995. Changes in the nutrition and Management of herbivores in the nutrition of herbivores. INRA. París.
- ROSENBERGER, G. 1979. *Clinical examination of oattle*. Paul Parey. Berlín.
- WALLACE, R. J. 1991. Rumen microbial metabolism and ruminant digestion. INRA. París.

8. ANEXOS

Anexo 1: Valores de volumen urinario (l) excretados cada 3 horas, durante cuatro días, por 12 vacas Holstein Friesian en lactancia.

		Vacas											
Día	Hora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	2	5.8	4.7	2.2	3.8	3.7	3.2	3.7	3.6	3.6	2.9	4.4	2.3
1	5	3.4	3.3	0.4	5.2	3.2	3.3	5.2	3.3	3.1	1.5	4.8	1.9
1	8	3.0	3.5	2.7	1.7	2.8	3.6	2.6	2.5	4.0	3.1	1.2	2.0
1	11	1.8	3.3	2.4	3.4	2.6	3.3	3.7	3.0	3.2	2.5	4.0	2.2
1	14	4.3	1.9	1.2	3.3	2.6	2.9	1.3	1.3	2.8	2.3	3.7	2.6
1	17	1.2	3.1	1.4	2.5	3.6	1.2	2.4	1.4	2.1	2.6	3.4	1.8
1	20	1.8	3.0	3.3	2.2	2.9	2.8	2.1	2.2	2.0	2.1	2.1	1.9
1	23	3.7	5.6	3.1	3.4	4.6	6.1	2.6	2.7	2.5	2.6	2.8	2.7
2	2	4.3	3.5	2.9	3.5	3.3	3.3	2.7	2.4	3.4	3.6	3.8	2.2
2	5	2.9	5.8	2.0	2.9	2.7	2.1	1.6	3.4	3.9	3.3	3.3	2.4
2	8	2.5	3.2	0.0	1.4	2.9	3.5	3.5	2.4	3.2	1.7	3.2	1.8
2	11	3.1	2.8	3.0	3.5	2.6	2.6	1.7	3.4	2.3	3.7	3.1	2.0
2	14	3.1	3.8	3.2	2.9	2.7	2.6	3.1	2.9	3.0	2.9	3.0	2.1
2	17	3.7	3.1	4.2	2.8	2.5	3.3	4.0	3.3	2.9	2.8	3.8	2.6
2	20	3.7	3.3	2.5	2.5	3.0	2.5	2.9	2.5	2.5	2.9	2.7	2.6
2	23	3.8	4.1	2.8	3.5	3.7	3.7	2.6	2.7	3.1	3.1	2.7	2.2
3	2	3.6	4.7	2.5	2.2	2.5	3.3	2.8	3.5	2.8	2.9	3.7	2.1
3	5	3.3	2.1	1.6	2.7	2.7	3.1	3.4	3.2	3.0	3.7	3.9	2.6
3	8	3.2	3.4	5.2	1.4	2.5	2.1	2.1	3.1	2.5	2.3	1.3	2.1
3	11	1.9	1.9	1.3	1.6	2.4	2.7	2.3	2.5	2.7	2.1	3.7	1.3
3	14	3.4	3.2	2.1	3.0	3.1	2.9	2.8	2.4	2.5	2.9	2.6	1.6
3	17	2.9	2.0	1.6	2.2	4.7	3.6	3.2	3.0	2.3	1.6	4.2	1.5
3	20	3.5	4.2	2.3	2.4	2.6	2.6	2.8	2.8	3.0	2.5	2.9	2.1
3	23	3.3	2.8	2.4	2.6	3.0	2.7	3.0	3.4	2.8	2.8	3.5	2.3
4	2	4.6	3.7	2.6	3.6	2.8	3.6	4.5	2.6	3.0	2.6	2.9	1.8
4	5	3.4	4.3	3.2	3.5	3.1	3.2	5.4	1.9	3.3	2.1	3.2	2.4
4	8	2.0	3.6	1.7	1.7	2.1	2.8	2.6	2.4	2.5	2.6	1.6	1.6
4	11	2.7	1.8	3.6	1.8	1.9	2.8	2.6	2.1	2.0	2.3	3.0	2.0
4	14	2.7	2.1	2.6	3.1	1.4	2.8	2.6	2.3	2.2	2.4	2.8	1.9
4	17	3.3	4.0	4.0	2.8	2.4	3.0	3.1	2.8	2.9	2.7	2.7	1.8
4	20	2.4	3.5	2.7	2.6	2.4	2.7	3.1	2.3	2.7	1.7	2.7	1.9
4	23	3.2	2.9	2.9	3.0	3.3	3.6	3.2	2.8	3.2	2.2	2.8	2.2

Anexo 2: Valores de densidad urinaria en muestras obtenidas cada 3 horas, durante cuatro días, de 12 vacas Holstein Friesian en lactancia.

Día	Hora	Vacas											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	2	1.023	1.021	1.026	1.025	1.025	1.028	.025	1.028	1.021	.029	1.021	1.027
1	5	1.017	1.021	1.026	1.020	1.025	1.024	.015	1.025	1.020	.028	1.021	1.025
1	8	1.025	.023	1.025	1.026	1.027	1.025	.019	1.027	1.019	.031	1.020	1.032
1	11	1.027	.027	1.027	1.028	1.029	1.028	.028	1.029	1.028	.032	1.029	1.032
1	14	1.027	.027	1.028	1.027	1.028	1.028	.029	1.028	1.027	.030	1.028	1.027
1	17	1.026	.022	1.018	1.029	1.027	1.030	.025	1.029	1.030	.032	1.028	1.028
1	20	1.032	.024	1.030	1.032	1.030	1.031	1.031	1.033	1.034	.036	1.035	1.035
1	23	1.030	.022	1.027	1.028	1.025	1.019	1.030	1.033	1.031	1.032	1.027	1.030
2	2	1.026	1.022	1.029	1.027	1.029	1.029	1.028	1.031	1.027	1.027	1.027	1.028
2	5	1.024	1.018	1.026	1.027	1.028	1.027	1.028	1.029	1.025	1.026	1.027	1.028
2	8	1.022	1.022	*	1.027	1.027	1.027	1.028	1.028	1.026	1.026	1.026	1.029
2	11	1.029	1.028	1.029	1.030	1.031	1.031	1.032	1.029	1.026	1.030	1.033	1.034
2	14	1.027	1.022	1.028	1.028	1.029	1.031	1.028	1.028	1.027	1.028	1.028	1.032
2	17	1.027	1.026	1.027	1.027	1.029	1.030	1.027	1.029	1.026	1.029	1.027	1.027
2	20	1.028	1.027	1.030	1.032	1.031	1.034	1.031	1.033	1.031	1.031	1.032	1.032
2	23	1.030	1.025	1.030	1.029	1.028	1.030	1.031	1.032	1.029	1.027	1.029	1.031
3	2	1.026	1.020	1.030	1.031	1.028	1.031	1.028	1.028	1.027	1.027	1.025	1.032
3	5	1.025	1.020	1.025	1.029	1.026	1.029	1.028	1.026	1.025	1.027	1.027	1.029
3	8	1.025	1.023	1.023	1.030	1.028	1.030	1.031	1.026	1.027	1.030	1.028	1.030
3	11	1.030	1.029	1.030	1.031	1.027	1.034	1.029	1.032	1.028	1.032	1.030	1.033
3	14	1.027	1.024	1.027	1.032	1.022	1.030	1.028	1.031	1.031	1.029	1.031	1.036
3	17	1.029	1.021	1.028	1.035	1.026	1.029	1.028	1.027	1.029	1.030	1.029	1.033
3	20	1.030	1.026	1.030	1.035	1.032	1.034	1.031	1.031	1.030	1.030	1.029	1.033
3	23	1.030	1.027	1.028	1.033	1.032	1.032	1.030	1.032	1.030	1.030	1.030	1.031
4	2	1.024	1.023	1.028	1.028	1.027	1.028	1.024	1.033	1.028	1.032	1.030	1.030
4	5	1.025	1.021	1.028	1.027	1.025	1.027	1.021	1.032	1.028	1.029	1.028	1.028
4	8	1.029	1.025	1.028	1.027	1.030	1.030	1.028	1.032	1.031	1.030	1.030	1.032
4	11	1.029	1.029	1.028	1.032	1.033	1.030	1.031	1.033	1.033	1.032	1.034	1.032
4	14	1.029	1.029	1.028	1.033	1.033	1.031	1.028	1.034	1.033	1.032	1.030	1.031
4	17	1.029	1.023	1.027	1.032	1.030	1.030	1.025	1.030	1.029	1.030	1.030	1.032
4	20	1.033	1.028	1.032	1.032	1.033	1.036	1.032	1.034	1.034	1.037	1.034	1.034
4	23	1.032	1.029	1.029	1.031	1.028	1.029	1.029	1.033	1.031	1.034	1.033	1.033

* No hubo micción.

Anexo 3: Valores de concentración de urea (mmol/l) en muestras de orina obtenidas cada 3 horas, durante cuatro días, de 12 vacas Holstein Friesian en lactancia.

		Vacas											
Día	Hora	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	2	261	230	144	251	229	340	264	334	196	334	202	267
1	5	216	219	298	215	238	288	151	276	232	328	216	318
1	8	297	233	303	209	297	265	229	299	189	356	205	350
1	11	306	261	305	280	320	320	301	329	284	337	222	295
1	14	324	300	325	266	315	288	368	305	251	259	289	281
1	17	362	240	188	277	271	308	264	302	341	409	301	290
1	20	366	253	323	296	306	312	349	348	317	420	373	346
1	23	388	244	332	291	265	178	327	373	319	370	251	304
2	2	264	258	314	276	320	320	307	346	260	304	270	285
2	5	257	168	284	269	311	295	296	326	254	285	285	283
2	8	227	205	*	274	254	270	296	290	237	248	114	272
2	11	292	286	279	302	302	279	292	298	244	304	296	338
2	14	303	213	289	270	316	327	281	292	266	297	253	398
2	17	236	295	266	228	291	273	272	291	245	355	259	251
2	20	546	269	331	298	313	337	317	365	291	342	313	306
2	23	355	262	332	279	310	294	354	346	280	323	292	311
3	2	284	200	331	374	340	328	276	342	296	319	305	376
3	5	300	188	218	341	277	272	309	283	292	296	291	359
3	8	256	213	234	342	301	328	324	296	291	329	329	372
3	11	295	283	355	360	290	329	323	381	327	322	313	432
3	14	280	245	276	367	227	309	292	347	356	323	348	425
3	17	297	242	289	381	275	316	178	289	312	330	301	395
3	20	305	298	315	397	338	365	329	347	341	334	342	427
3	23	329	301	320	389	345	372	372	363	304	346	356	381
4	2	267	238	307	326	310	301	267	405	299	362	371	370
4	5	268	200	312	313	265	251	206	369	324	306	306	340
4	8	295	235	297	314	295	290	299	353	333	303	310	387
4	11	275	316	282	370	311	273	247	361	380	325	336	360
4	14	318	314	320	391	380	322	259	337	387	366	334	360
4	17	287	242	285	338	365	313	252	351	309	327	318	406
4	20	341	303	346	325	375	376	334	360	307	426	392	390
4	23	308	331	331	324	313	305	331	370	321	373	366	411

* No hubo micción.

Anexo 4: Valores de concentración de creatinina (mmol/l) en muestras de orina obtenidas cada 3 horas, durante cuatro días, de 12 vacas Holstein Friesian en lactancia.

Día	Hora	Vacas											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	2	4.0	3.6	1.8	4.5	4.1	4.1	2.8	4.8	3.1	4.9	2.4	4.8
1	5	3.7	2.8	5.7	4.7	5.5	4.9	3.9	5.1	4.0	5.9	4.7	8.1
1	8	6.4	3.9	4.9	5.1	4.7	5.5	4.4	6.3	3.9	6.0	4.0	9.6
1	11	5.9	5.9	5.8	5.5	7.0	4.3	6.3	6.3	6.3	6.5	5.2	7.4
1	14	6.3	6.8	6.8	6.0	6.0	5.6	8.0	6.4	5.3	5.4	5.7	6.4
1	17	6.0	4.9	3.4	5.7	5.8	6.2	6.4	6.7	5.9	6.1	6.0	6.5
1	20	6.4	5.3	6.0	7.3	5.8	5.5	8.4	7.6	6.7	7.2	6.8	7.6
1	23	5.0	3.6	5.8	4.5	3.1	2.6	6.0	5.0	5.4	4.9	4.2	5.8
2	2	3.4	3.9	4.5	3.7	4.6	4.6	4.5	5.4	3.1	4.0	2.5	5.3
2	5	4.6	1.9	3.8	2.9	4.5	3.7	5.3	5.2	3.9	5.1	5.2	4.4
2	8	3.6	4.8	*	4.8	4.6	4.3	5.6	5.0	4.1	4.8	2.3	5.7
2	11	6.2	6.4	5.5	6.0	6.0	5.2	5.1	5.1	4.0	5.9	6.5	7.7
2	14	5.1	4.4	4.9	4.5	5.0	4.9	3.7	4.1	3.9	4.3	3.6	6.9
2	17	5.3	6.5	6.4	6.3	4.8	5.5	5.8	4.3	4.0	6.0	3.5	4.2
2	20	4.0	4.7	4.8	5.2	4.6	5.3	6.5	6.6	3.3	3.7	3.8	5.4
2	23	5.3	3.5	3.5	4.1	3.1	5.4	5.8	4.6	4.1	3.2	2.4	5.6
3	2	4.1	5.4	4.6	6.2	6.6	3.3	4.7	3.8	5.0	4.8	4.2	5.5
3	5	5.5	4.0	3.6	5.2	4.2	3.9	5.3	4.7	3.9	5.2	3.8	6.4
3	8	4.7	5.6	3.6	5.8	5.9	6.1	6.7	5.3	6.0	5.8	5.0	6.2
3	11	4.6	5.7	0.1	5.1	5.4	6.7	6.3	5.9	5.2	5.1	4.7	8.2
3	14	4.9	3.3	3.4	5.4	3.7	4.8	3.9	4.9	3.6	5.5	4.0	8.1
3	17	5.7	1.2	4.4	7.5	5.2	5.5	4.0	3.4	5.0	5.8	3.4	5.4
3	20	5.5	5.0	5.8	6.1	6.2	6.4	5.4	5.7	3.8	5.0	3.2	5.2
3	23	4.5	5.7	5.7	7.4	5.2	5.2	5.6	5.4	3.7	5.6	5.1	5.4
4	2	2.7	2.7	4.0	3.1	4.5	2.9	2.7	7.4	3.3	5.6	4.9	4.8
4	5	4.6	3.4	4.9	4.2	3.9	3.1	1.9	7.6	4.0	5.1	4.9	5.1
4	8	4.8	5.7	2.7	4.4	7.0	4.6	5.9	7.0	6.2	7.4	7.0	7.5
4	11	6.1	6.4	4.7	5.9	6.7	4.5	4.8	6.4	6.3	6.7	5.0	6.2
4	14	6.4	6.6	6.2	7.5	5.0	4.8	4.3	5.0	4.6	4.0	6.3	5.0
4	17	5.1	4.9	4.0	5.3	6.5	5.4	5.4	5.9	4.8	6.3	3.5	7.7
4	20	5.2	5.3	5.0	6.0	5.8	6.5	5.8	7.1	4.5	7.3	4.6	7.0
4	23	4.7	4.7	5.2	4.2	4.2	4.9	3.4	5.5	4.3	4.6	3.5	6.9

* No hubo micción.

Anexo 5: Porcentajes diarios de nitrógeno urinario, en base a 100 % de M. S. de la orina, emitida cada 24 horas, durante cuatro días, por 12 vacas Holstein Friesian en lactancia.

Día	Vacas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	17.11	16.94	17.37	15.86	16.79	17.27	17.39	18.76	16.84	17.72	16.78	16.89
2	17.92	17.7	16.45	17.61	18.83	19.31	18.53	18.6	17.29	19,68	17.43	19.06
3	19.79	18.87	19.1	21.45	20.46	18.37	20.03	21.24	18.93	20.2	20.78	23.9
4	19.64	19.4	19.36	21.57	20.64	17.94	18.41	19.52	19.29	18.98	18.51	22.12

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todos a los que de una u otra forma colaboraron en la elaboración de este trabajo y en especial a:

Dr. Fernando Wittwer M.

Dr. Diego Ibarra R.

Dr. Pedro Contreras B.

Dr. Enrique Paredes H.

Sra. Melga Böhmwald.

Sra. Helia Ludwig.

Sr. Atilio Delgado.

Srta. Claudia Bilbao P.

Sr. José Laporte U.

Sr. Rafael Perdomo R.

Sr. José Enrique Varas

Sr. Jorge Balboa