



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

**EFFECTO DEL NIVEL DE SUPLEMENTACIÓN ENERGÉTICA SOBRE
LA RESPUESTA METABÓLICA Y PRODUCTIVA, EN VACAS
CONSUMIENDO PRADERAS CON ALTO CONTENIDO PROTEÍCO.**

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de
Magister en Ciencias Agropecuarias, Mención Producción Animal.

MARÍA BELÉN RIVERA SOLÉ

Directores de Tesis

HÉCTOR MANTEROLA BADILLA
HUMBERTO GONZÁLEZ VERDUGO

Profesores Consejeros

GIORGIO CASTELLARO GALDAMES
JURIJ WACYK GONZÁLEZ

Profesor Colaborador

HECTOR URIBE MUÑOZ

SANTIAGO-CHILE

2013

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

**EFFECTO DEL NIVEL DE SUPLEMENTACIÓN ENERGÉTICA SOBRE
LA RESPUESTA METABÓLICA Y PRODUCTIVA, EN VACAS
CONSUMIENDO PRADERAS CON ALTO CONTENIDO PROTEÍCO.**

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Título Profesional de
Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias, Mención
Producción Animal.

MARÍA BELÉN RIVERA SOLÉ

	Calificaciones (Memoria de Título)	Calificaciones (Tesis de Grado)
DIRECTORES DE TESIS		
Héctor Manterola Badilla. Ingeniero Agrónomo. Mg.Sc.	7.0	Aprobada
Humberto González Verdugo. Ingeniero Agrónomo. Mg.Sc.	7.0	Aprobada
PROFESORES CONSEJEROS		
Giorgio Castellaro Galdames. Ingeniero Agrónomo. Mg.Sc.	6.7	Aprobada
Jurij Wacyk González Ingeniero Agrónomo. Ph.D.	6.6	Aprobada

Santiago, Chile

2013

AGRADECIMIENTOS

A Jesucristo, por siempre iluminar mi camino.

A mis padres, Irene y Adán, quienes me han apoyado inmensamente a lo largo de toda mi vida y en especial en esta última etapa de mis estudios, en la que a pesar de haber pasado momentos muy difíciles, siempre hemos podido salir adelante.

A mi Nonita, por regalarme siempre como si fuera una hija más y a toda la familia Orellana Solé, en especial a mi Tía Marcela.

A mis grandes amigos Antumapinos de la generación 2005, a mis amigas del colegio y también a mis compañeras y amigas del Magister, Emilia, Ximena y Sandra.

A Michelangelo, por estar presente en las buenas y en las malas.

A mis Profesores Guías, Héctor Manterola y Humberto González, quienes desde el principio de este proceso se interesaron por darme su ayuda, siempre empáticos y afectuosos, resolvieron mis inquietudes, me entregaron su experiencia y conocimientos los cuales son de gran importancia para mí en lo personal y profesional.

Al Profesor Héctor Uribe, quien de forma desinteresada colaboro con mi análisis estadístico, siempre con mucha paciencia y gran disponibilidad, por lo que me hace admirar y valorar su vocación docente.

A la Profesora Dina Cerda, con la cual compartí varios meses en el laboratorio, siempre muy amena y dispuesta a entregar ayuda.

Finalmente, quisiera agradecer a los trabajadores de la Estación Experimental Oromo, en especial a Ricardo y Don Víctor.

INDICE

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCION.....	3
3.1 Metabolismo del nitrógeno a nivel ruminal	4
3.2 Eficiencia de utilización del Nitrógeno	6
3.3 Degradabilidad de los alimentos.	7
3.4 Urea leche y Urea plasmática.	8
3.5 Respuestas metabólicas y productivas a la suplementación con carbohidratos en vacas lecheras consumiendo dietas de un alto contenido proteico.....	9
3.6 Hipotesis	12
3.7 Objetivos	12
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
4.1 Materiales	13
4.2 Metodología.....	14
4.2.1 Parámetros cuantificados.....	15
4.3 Técnicas Experimentales.....	16
4.3.1 Parámetros ruminales.....	16
4.3.2 Parámetros sanguíneos.....	16
4.3.3 Parámetros productivos.	17
4.3.4 Parámetros de los alimentos.	20
4.4 Diseño Experimental y Análisis Estadístico	23
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
5.1 Composición química de la pradera y del suplemento.....	25
5.2 Degradabilidad de la pradera.....	26
5.3 Degradabilidad de los cereales y mezcla de carbohidratos.	28
5.4 Degradabilidad real o efectiva.....	29
5.5 Consumo de materia seca.....	30
5.6 Peso vivo.	32

5.7	Parámetros ruminales.	34
5.7.1	Amoníaco Ruminal.	34
5.7.2	pH ruminal.	36
5.8	Parámetros sanguíneos.	37
5.8.1	NH ₃ Plasmático.	37
5.8.2	Urea plasmática.	39
5.9	Producción y composición de la leche.	41
5.9.1	Producción de leche.	41
5.9.2	Contenido grasa.	43
5.9.3	Contenido proteína.	45
5.9.4	Concentración de urea láctea.	46
5.10	Correlaciones entre amoníaco ruminal y parámetros sanguíneos.	48
5.11	Correlaciones entre parámetros sanguíneos y lácteos.	49
5.12	Regresiones lineales entre parámetros ruminales, sanguíneos y lácteos.	51
5.13	Ecuaciones predictivas para estimar concentraciones de metabolitos plasmáticos y NH ₃ ruminal.	54
6.	CONCLUSIONES.	56
7.	BIBLIOGRAFIA.	57
8.	APÉNDICE.	66

1. RESUMEN

Se realizó un ensayo en la Estación Experimental Oromo dependiente del Departamento de Producción Animal de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la suplementación energética sobre la respuesta metabólica y productiva, en vacas consumiendo praderas de un alto contenido proteico. El estudio fue realizado durante los meses de Noviembre y Diciembre del año 2011 y tuvo una duración de 21 días. Se utilizaron 15 vacas de la raza Holstein Neozelandés para analizar parámetros productivos y sanguíneos, las que fueron asignadas a un diseño completamente al azar con 3 tratamientos. Para el estudio de parámetros ruminales se utilizaron 3 vacas de la misma raza provistas de cánula ruminal, las que fueron asignadas a un diseño de cuadrado latino de 3x3, con tres tratamientos y tres periodos. Los tratamientos para ambos diseños fueron: T0, solo pastoreo; T2, pastoreo más 4 Kg diarios de concentrado compuesto en un 50% de maíz roleado al vapor y 50% avena entera y T3, pastoreo más 6 Kg diarios del mismo concentrado. Los animales fueron suplementados dos veces al día y realizaron pastoreo de tipo rotativo en franjas. El peso vivo y condición corporal fueron registrados durante todos los días. La producción de leche se registró los últimos cuatro días de cada semana y la composición de leche se analizó semanalmente. Las muestras de sangre y de líquido ruminal fueron recolectadas los dos últimos días de cada periodo, las muestras de sangre en la mañana y las ruminales durante mañana y tarde.

En relación a parámetros metabólicos, el amoníaco ruminal disminuyó significativamente ($P<0,05$) con el aumento del nivel de concentrado (17,7; 15,0 y 13,9 $\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ para T0, T2 y T3). El amoníaco plasmático disminuyó ($P<0,05$) con la inclusión de concentrado pero no se observaron diferencias entre los niveles de concentrado (0,497; 0,416 y 0,391 $\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ para T0, T2 y T3). La concentración de urea plasmática disminuyó significativamente ($P<0,05$) al aumentar el concentrado (28,3; 26,2 y 21,8 $\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ para T0, T2 y T3).

El peso vivo y la producción de leche no fueron afectados por los tratamientos ($P>0,05$). En términos de composición láctea, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($P>0,05$), exceptuando la concentración de urea láctea, la que disminuyó significativamente ($P<0,05$) con el aumento de concentrado en la dieta (46,8; 42,3 y 36,3 $\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ para T0, T2 y T3)

Bajo las condiciones en las que fue realizada esta investigación, se concluye que al aumentar el nivel de concentrado energético en la dieta de vacas lactantes consumiendo praderas de un alto contenido proteico, se reduce la concentración de amoníaco a nivel ruminal y sanguíneo, lo que provoca una disminución importante en los niveles de urea plasmática y láctea, sin provocar efectos significativos sobre los parámetros productivos.

Palabras clave: Suplementación, concentrado, amoníaco, urea, leche, pastoreo.

2. ABSTRACT

A research was conducted at the Oromo Experimental Station, Department of Animal Production, Faculty of Agricultural Sciences, Universidad de Chile. The objective of this study was to evaluate the effect of energy supplementation on the metabolic and productive response of dairy cows fed pasture with high protein content and high degradability. The study was conducted during November and December of 2011 and lasted for 21 days. Fifteen Cows Holstein New Zealand randomly assigned to three treatments, were used to analyze blood, and productive parameter. For the study of rumen parameters three rumen fistulated cows were assigned to three treatments rotating during three periods under a 3 x 3 Latin square design. Treatments for both experiments were: T0, cows only grazing pasture; T2, grazing pasture plus 4 Kg/day of a concentrate composed of 50% corn and 50% oats and T3, grazing pasture plus 6 Kg/day of the same concentrate. Cows were supplemented twice a day and managed under a strip grazing system. Body weight and body condition were recorded every day. Milk production was recorded the last four days of each week and milk composition was analyzed weekly. Blood samples and ruminal fluid were collected the last two days of each period, blood samples in the morning and the rumen during morning and evening.

Ruminal ammonia decreased significantly ($P < 0,05$) as the level of concentrate was increased (17,7; 15,0 and 13,9 $\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ for T0, T2 and T3). Plasma ammonia decreased ($P < 0,05$) with the inclusion of concentrate but no differences among levels of concentrate (0,497; 0,416 and 0,391 $\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ for T0, T2 and T3) were found. Plasma urea concentration decreased significantly ($P < 0,05$) as concentrate was increased (28,3 ; 26,2 and 21,8 $\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ for T0, T2 and T3).

Live weight and milk production were not affected by treatments ($P > 0,05$). No statistical differences in milk composition, among treatments were found. ($P > 0,05$), except milk urea concentration, that decreased significantly ($P < 0,05$) as concentrate was increased (46,8; 42,3 and 36,3 $\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ for T0, T2 and T3). Under the conditions in which this research was conducted, it is concluded that increasing the level of an energy concentrate in the diet of lactating cows consuming pasture of a high protein content, reduces the concentration of ammonia in the rumen and blood, with a significant decrease in plasma urea and milk levels but without any significant effects on animal productive performance.

Keywords: Supplementation, concentrated, ammonia, urea, milk, grazing.

3. INTRODUCCION

La producción lechera en el sur de Chile se basa en la utilización directa de praderas permanentes y pasturas como fuente de alimento, ya que este es un sistema de alimentación que implica bajos costos a los productores, sin embargo debido a las condiciones climáticas imperantes, existe una marcada estacionalidad en la producción de la pradera, por cual la calidad y la cantidad de materia seca producida no es constante a lo largo del año, existiendo en los meses de otoño e invierno una disminución en la producción de forraje, en el verano una disminución en la calidad y en el periodo primaveral se produce alrededor del 40% del forraje anual (Treuber y Dumont, 1996; Mella, 2007). Por este motivo, el productor se ve enfrentado a la necesidad de suplementar a los animales para que puedan lograr suplir sus requerimientos a través del año y alcancen producciones adecuadas según su mérito genético (Mella, 2007).

En primavera la pradera presenta un elevado contenido de proteína altamente degradable a nivel ruminal, alta digestibilidad, bajos contenido de fibra y materia seca, y en general, un mayor valor nutritivo que en el resto de las temporadas del año (Pedraza, 2006). Algunos análisis de forrajes realizados en muestras de praderas primaverales de la zona sur de Chile, han permitido medir concentraciones de proteína cruda sobre un 25% y hasta 30% (Berndt, 2005). En relación al contenido de energía metabolizable de la pradera en este periodo, Pulido *et al.*, (2009) reporta un valor de $2,87 \text{ Mcal} \cdot \text{Kg}^{-1}$. El porcentaje de materia seca reportado por Parga y Lanuza (2006) para una pradera del llano longitudinal de Osorno en primavera es de un 16%.

Steg *et al.*, (1994), indican que cuando existe una elevada ingestión de proteína junto a un bajo aporte de energía, se contribuye a generar problemas de exceso de amoníaco a nivel del rumen. Esto se agudiza aún más por el alto grado de degradabilidad ruminal que tienen las proteínas de los pastos en el período de crecimiento activo, como lo es en las condiciones del presente ensayo.

Castillo (1999), indica que la eficiencia con la que el nitrógeno dietario se convierte en proteína de la leche en animales a pastoreo o alimentados con ensilaje de pradera, rara vez supera el 30%. Esta ineficiencia se relaciona normalmente con un desequilibrio entre proteínas y carbohidratos a nivel ruminal, provocando una disminución en la síntesis de proteína microbiana, lo que conlleva a una elevada absorción de amoníaco por la pared ruminal, el cual se dirige al hígado vía el sistema porta-hepático. En los hepatocitos se encuentra el sistema enzimático del ciclo de la urea, el cual transforma el amonio a urea, molécula no tóxica (Lobley *et al.*, 2000). Este ciclo se desarrolla en las mitocondrias y citosol de las células que componen región intermedia del hígado, el primer paso ocurre al interior de la mitocondria y es mediado por la enzima carbamoil-fosfato sintetasa formando carbamoil fosfato, a partir de amonio, 2 moléculas de ATP y bicarbonato. Sin embargo, esta reacción tiene una baja afinidad (K_m) por lo que el amonio que no ingresa al ciclo toma una

ruta diferente, la formación de glutamato y glutamina. El glutamato es formado a partir de amonio y alfa-cetoglutarato, reacción catalizada por la enzima glutamato deshidrogenasa. Este aminoácido a su vez se puede condensar con otra molécula de amonio para formar glutamina en una reacción que es catalizada por la enzima glutamina sintetasa, que al contrario de la reacción catalizada por la enzima carbamoil-fosfato-sintetasa, es de baja capacidad pero de alta afinidad. La glutamina formada transporta el amonio a través del torrente sanguíneo y entra en el riñón, en donde es hidrolizada mediante la enzima glutaminasa para regenerar glutamato liberando el ion amonio, el cual finalmente es excretado en la orina. De esta forma la glutamina permite excretar rápidamente el ion amonio sin necesidad del ciclo de la urea. Sin embargo, este proceso puede representar un costo para el organismo en cuanto a la disponibilidad de precursores de gluconeogénesis, dado que para formar glutamato se utiliza alfa-cetoglutarato (Correa y Cuellar, 2004).

Lo anterior ocurre en la mayoría de las condiciones fisiológicas, la urea posteriormente es reciclada por la saliva, pared ruminal o eliminada por la orina, manteniendo así una baja concentración de amoniaco en la circulación sistémica (Symonds, 1981). De todas formas, si los animales se alimentan de raciones que contienen grandes cantidades de proteína altamente degradable o nitrógeno no proteico, la cantidad de amoniaco que entra en la circulación portal puede exceder la velocidad a la que el hígado puede metabolizar, ingresando a la circulación sistémica causando alta toxicidad, ya que el amoniaco es un compuesto neurotóxico observándose un marcado daño cerebral en aquellos casos en los que los procesos de eliminación fallan, ya que este puede difundir al sistema nervioso central y a nivel del hipotálamo afectaría los centros de la saciedad, con la consiguiente reducción del apetito y, por lo tanto, del consumo, lo cual a su vez provocaría una reducción en la producción de leche (Manterola, 2010).

La producción de leche puede ser afectada igualmente en rebaños con altas concentraciones de urea en sangre, según Ferguson *et al.*, (1993). Estas afectaciones productivas y reproductivas, pueden ser el resultado de los gastos necesarios para transformar 1 g de nitrógeno en urea, lo que requiere 7,3 kcal (Deiros *et al.*, 2004). Esto supone 1 Mcal de energía metabolizable (equivalente a 1,5 L de leche o pérdida de 200 g de grasa corporal al día) cada 4,0 mg·dl⁻¹ de incremento de los niveles de nitrógeno ureico en leche o en sangre.

Esto se puede acentuar en vacas de alta producción, en las cuales la ureogénesis compite con la gluconeogénesis por oxaloacetato, aumentando el estrés metabólico (Bach, 2004; Correa y Cuellar, 2004).

3.1 Metabolismo del nitrógeno a nivel ruminal

El metabolismo de las proteínas en el rumen es el resultado de la actividad metabólica de los microorganismos ruminales (Bach, 2005). El primer paso de la degradación de proteínas en el rumen implica la unión de las bacterias a las partículas de alimento, seguido por la actividad de proteasas de los microorganismos (Brock *et al.*, 1982). Los productos resultantes de este proceso son aminoácidos y péptidos (Bach, 2005; Chase, 2007). Los

péptidos pueden degradarse hasta aminoácidos por la acción de peptidasas y los aminoácidos se pueden incorporar a la proteína microbiana o bien ser desaminados formando ácidos grasos volátiles, CO₂ y amoníaco (Tamminga, 1979; Bach, 2005).

El destino de los aminoácidos y péptidos una vez dentro de la célula microbiana va a depender de la disponibilidad de energía. Si la energía está disponible, los aminoácidos son transaminados o utilizados directamente para la síntesis de proteína microbiana. En cambio si la energía es limitante, los aminoácidos son desaminados formando esqueletos carbonados y amoníaco (Tamminga, 1979).

La proteína microbiana producida en el rumen proporciona la mayoría de proteína al sistema digestivo de la vaca. Storm y Orskov (1983), señalan que representa un 50-80% de los aminoácidos absorbidos por el rumiante. Los microorganismos ruminales son capaces de sintetizar de novo los diez aminoácidos esenciales para los tejidos de los mamíferos (Nolan y Dobos, 2005), así como de obtener por esta vía la mayor parte de los requerimientos de aminoácidos. La síntesis de estos aminoácidos se realiza a partir de amoníaco y esqueletos carbonados simples, producidos durante la degradación del alimento.

Las pérdidas de nitrógeno ruminal son particularmente importantes en animales bajo condiciones de pastoreo ya que las vacas seleccionan forraje de alta calidad y con un elevado contenido de proteína cruda (Tamminga, 1996). La eficiencia con la que el nitrógeno dietario es utilizado por las vacas lecheras es generalmente baja y, en parte, puede estar relacionada a una utilización deficiente de nitrógeno a nivel ruminal. Una de las principales determinantes de la síntesis de proteína microbiana es la disponibilidad de sustratos energéticos (Dijkstra et al., 1998).

La síntesis de proteína microbiana se puede maximizar, si se sincroniza la disponibilidad de energía fermentable y de nitrógeno degradable para los microorganismos del rumen (Orskov, 1992). Por otro lado, la síntesis de proteína microbiana se incrementa por la inclusión de moderadas cantidades de carbohidratos, fácilmente fermentables en la dieta (Dewhurst *et al.*, 2000).

A pesar de la gran importancia del amoníaco para el crecimiento de los microorganismos del rumen, estos no pueden utilizar todo el amoníaco presente en el rumen, ya que existe un límite en la cantidad que pueden fijar. La concentración óptima para la síntesis de proteína microbiana se encuentra entre 5,6 y 10,0 mg·dl⁻¹ de NH₃ ruminal, siempre que la disponibilidad de energía no limite el ecosistema ruminal (Van Soest, 1994). Satter y Roffler (1975), estimaron que la concentración de NH₃ ruminal de 5,0 mg·dl⁻¹ es la que permite el máximo crecimiento microbiano, consumiendo una dieta de aproximadamente 13% de proteína cruda. Sobre estos niveles, la concentración de amoníaco se incrementa pero sin aumentar la producción de proteína microbiana.

3.2 Eficiencia de utilización del Nitrógeno

Castillo *et al.*, (2001), señalan que es posible mejorar la utilización de nitrógeno en vacas lecheras al manipular las fuentes de energía en el concentrado, sin afectar la producción ni composición de la leche. En concreto señalan que al utilizar un suplemento con una alta proporción de almidón ($558 \text{ g} \cdot \text{Kg MS}^{-1}$) se disminuye la excreción de nitrógeno por la orina, aumentando la eficiencia de utilización de este compuesto.

La mayoría del nitrógeno que es excretado en las heces y orina contribuye a la contaminación del medio ambiente. Esto se realiza en dos formas, ya sea como amoníaco en el aire o en forma de nitrato en el suelo, afectando la salud humana y animal (Castillo, 1999). El amoníaco es un gas altamente reactivo que tiene efectos importantes en la química atmosférica, la tierra y el agua. Este gas es liberado principalmente por la hidrólisis de la urea en la orina cuando esta se expone al aire. Debido a la presencia de bacterias ureolíticas en las heces y a las grandes cantidades de urea excretadas en la orina, se sugiere que un 75% del nitrógeno que es excretado en el estiércol se puede convertir en amoníaco. Además, la concentración de urea en la orina es el principal factor involucrado en la volatilización del amoníaco. Por otro lado, el amoníaco en condiciones aeróbicas se convierte en nitrato por nitrificación en las capas superficiales del suelo, compuesto que pueden filtrarse a las aguas subterráneas. Para cuantificar esta problemática el autor señala que en condiciones de pastoreo sin suplementación energética una vaca elimina en promedio $102 \text{ g} \cdot \text{día}^{-1}$ de nitrógeno en las heces y $115 \text{ g} \cdot \text{día}^{-1}$ en la orina, en total $217 \text{ g} \cdot \text{día}^{-1}$ de nitrógeno diariamente por cada animal (Castillo, 1999)

Por otro lado, la ineficiencia en el uso del nitrógeno de la dieta provoca problemas de tipo reproductivo en los animales. El aumento en los niveles de proteína cruda en las dietas de vacas lecheras utilizados para producir aumentos en la producción láctea ha contribuido a la disminución en la fertilidad observada en los últimos 30 años. Los altos niveles de proteína degradable en el rumen están asociados con tumores de ovario y con alteraciones de la fisiología uterina, dando lugar a insuficiencia en la función del cuerpo lúteo y mortalidad embrionaria (Sinclair, 2000). Elevados niveles de urea en sangre y leche pueden estar relacionados con la aparición de problemas reproductivos. Por ejemplo, Guo (2004), asoció una alta concentración de nitrógeno ureico en leche con un ligero aumento en el intervalo parto-concepción en vacas primerizas de alta producción.

En vacas lecheras que consumen dietas basadas en forrajes de alta calidad nutricional existen variadas formas de mejorar la utilización de nitrógeno y de reducir las pérdidas en las excreciones como heces y orina. Castillo (1999), señala que se debe reducir el contenido de nitrógeno en la dieta y este se debe ajustar a los requerimientos de cada etapa de desarrollo del animal. Además señala que debe existir una sincronía en la relación energía: proteína a nivel ruminal para mejorar la eficiencia de la degradación del nitrógeno a través de la síntesis de proteína microbiana. Broderick *et al.*, (2010), señala que se debe apuntar a

la exactitud en la alimentación proteica de los animales para reducir el efecto que tiene la producción de leche y ganadera en general sobre el medio ambiente.

3.3 Degradabilidad de los alimentos.

La digestión de los rumiantes es un proceso complejo que involucra múltiples interacciones entre la dieta, los microorganismos y el hospedero. La dinámica de la digestión se caracteriza por todos los procesos bioquímicos y microbiológicos que se suceden en el rumen para degradar los nutrientes. La degradación y el tránsito de las partículas por el tracto gastrointestinal son afectados por factores inherentes al animal y por las características del alimento. Los modelos matemáticos permiten estudiar y estimar parámetros que se describen en la naturaleza intrínseca de los alimentos y las interacciones de los nutrientes que limitan su digestión (Noguera, 2007).

La técnica *in situ* ofrece la posibilidad de estudiar la degradabilidad ruminal de los alimentos a través de la utilización de bolsas de nylon suspendidas en el rumen. Esta técnica ha sido adoptada como método estándar para caracterizar la degradabilidad ruminal de la proteína del alimento, como también para describir las características de degradación de la materia seca (AFRC, 1993). El modelo generalmente usado es el propuesto por Orskov y McDonald (1979) y permite diferenciar entre una fracción soluble, insoluble degradable y no degradable en el rumen; como también la tasa de degradación, degradabilidad potencial y la degradabilidad efectiva del alimento, cuando se asume una tasa de escape desde el rumen (Orskov y McDonald, 1979).

La tasa de pasaje tiene un efecto sobre la degradabilidad de los alimentos (Orskov, 1980). La renovación del contenido ruminal tiene una gran influencia en la eficiencia de utilización del alimento, existiendo una relación inversa entre la tasa de pasaje y la degradación del alimento (Kamande, 2006). Por este motivo se debe corregir la degradabilidad por la tasa de pasaje ya que el método *in situ* sobre estima los valores de este parámetro. Para calcular la degradabilidad efectiva se debe incorporar el valor “k”, el cual representa la tasa fraccional de pasaje desde el rumen, el valor de k para vacas de alta producción es de $0,08 \text{ h}^{-1}$ (AFRC, 1993).

Uno de los factores que incide en la problemática que se genera en animales consumiendo pasturas con alto contenido de proteína degradable a nivel ruminal es la deficiencia relativa que existe en el aporte de carbohidratos solubles y semi solubles en la dieta ingerida, lo cual deriva en un aporte insuficiente de energía y cadenas carbonadas a las bacterias ruminales, para la mayor captación del amoníaco para síntesis de compuestos nitrogenados (Manterola, 2010). Debido a lo anterior, el aporte de fuentes de carbohidratos es fundamental para poder neutralizar el efecto nocivo de las altas concentraciones de amoníaco sobre el animal. Sin embargo, las fuentes de carbohidratos, que comúnmente son granos de cereales, presentan diferentes tasas de degradación, por lo que entregan la energía y cadenas carbonadas de distinta manera a nivel ruminal, es por eso que para cubrir los

requerimientos post ingestión de las bacterias para captar amoníaco se necesita incluir en la dieta al menos dos fuentes de carbohidratos.

El grano de avena se caracteriza por ser un carbohidrato altamente degradable a nivel ruminal, especialmente en la fracción soluble, por lo que su aporte de energía y cadenas carbonadas cubriría sólo la parte inicial del incremento en la concentración de amoníaco; en cambio el maíz presenta una tasa de degradación más lenta y con una entrega más gradual de energía y cadenas carbonadas, cubriendo una mayor área del incremento de concentración del amoníaco (Carreño, 2010). Asimismo, Jahn *et al.*, (1996) señalan que el maíz y avena poseen diferentes niveles de degradabilidad de la materia seca a través de todo el proceso digestivo. La degradabilidad de la materia seca fue alta en el grano de avena en la primera hora de incubación (58%) y en el maíz fue baja (28%). Luego a las 48 horas de incubación ruminal el valor de la degradabilidad para avena y maíz fue de 75% y 92% respectivamente.

Pulido *et al.*, (2000) señalan valores de degradabilidad de la proteína para una pradera de *Lolium perenne* L. de 41,47% para la fracción soluble “a”, 55,74% para la fracción potencialmente degradable “b”, 97,21% para la degradación máxima potencial “a+b” y una degradabilidad efectiva de 85,34%, con una tasa de pasaje de 0,08 horas⁻¹. Carreño (2010) reporta para la misma especie, valores de 57% para “a”, 11,7% para “b”, 68,7% para “a+b” y una degradabilidad real 66,2%, con una tasa de pasaje de 0,08 horas⁻¹.

Pulido *et al.*, (2009) reportaron valores de degradabilidad de la materia seca para una pradera de tipo permanente mejorada compuesta por un 70,4% de *Lolium perenne* L. El autor indica que para la fracción “a” el valor fue 52,26%, para “b” 42,71%, “a+b” 94,97% y una degradabilidad efectiva de 75,58%. Carreño (2010) indica para “a” un valor de 39,1%, “b” 57,1%, “a+b” 96% y una degradabilidad real de 66,6%.

3.4 Urea leche y Urea plasmática.

La urea plasmática es un indicador sensible de la ingesta de proteína cruda y su sincronismo con la liberación de energía en el rumen, ya que sus concentraciones son dependientes de la producción y absorción del amonio ruminal (Sinclair *et al.*, 2000). Así, una adecuada suplementación con concentrados, que aporten energía, mejora el aprovechamiento del amonio ruminal, disminuyendo la concentración plasmática de urea y por consiguiente su concentración en la leche y orina, ya que la urea se equilibra rápidamente a través de los fluidos corporales.

Según Lewis (1957) citado por Glen *et al.*, (1997), la urea es la principal forma de excreción de N en los mamíferos, y señala que la concentración de urea en la sangre refleja la eficiencia de utilización de la proteína cruda de la dieta de rumiantes. Por otro lado Broderick *et al.*, (2003), señalan que la concentración de urea en leche, es un reflejo de la concentración de nitrógeno ureico en la sangre ($R^2=0,842$). Por lo tanto, la concentración

de urea presente en la leche puede ser utilizada como un índice para estimar la eficiencia de utilización del nitrógeno (Rook y Thomas, 1985). Así mismo Broderick *et al.*, (2010) indican que la urea en la leche es un indicador indirecto del estado del nitrógeno a nivel ruminal ya que la urea láctea y la concentración de amoníaco ruminal están relacionadas ($R^2=0,574$).

Pedraza *et al.*, (2006) indicaron que la estación del año en la que se registra el parto establece diferencias significativas en los niveles de urea registrados en leche, siendo la primavera la que registra los mayores niveles. El nivel productivo de leche se asocia significativamente con el nivel de urea determinado en leche. Así, se aprecian menores concentraciones de este metabolito en el nivel alto de producción difiriendo significativamente de los niveles intermedios y bajo.

3.5 Respuestas metabólicas y productivas a la suplementación con carbohidratos en vacas lecheras consumiendo dietas de un alto contenido proteico.

Cuando los animales se encuentran a pastoreo, la pradera cosechada por el animal, en primavera, generalmente tiene un bajo contenido de fibra, carbohidratos solubles y un mayor contenido de proteína altamente degradable a nivel ruminal, similar a lo que ocurre con ensilajes y heno. Como resultado de esto, gran cantidad de la proteína del forraje es transformada rápidamente a amoníaco por los microorganismos ruminales, lo que provoca un exceso de absorción de amoníaco a través de la pared ruminal, aumentando las pérdidas de nitrógeno por la leche y orina. La mejor utilización de los nutrientes, especialmente de nitrógeno, se puede lograr haciendo coincidir el aporte de proteína degradable a nivel ruminal y de carbohidratos en la dieta.

Reis y Combs (2000), estudiaron los efectos de incorporar niveles crecientes de suplementación con grano de maíz seco en vacas pastoreando praderas de gramíneas-leguminosas. Se evaluaron tres niveles de suplementación, 0 Kg, 5 Kg, 10 Kg. Se observó que la concentración de amoníaco ruminal disminuyó linealmente con la inclusión de suplementos en la dieta ($P<0,05$), alcanzando valores de 22,4; 17,7 y 13,8 $\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$, con el nivel de suplemento de 0; 5 y 10 Kg respectivamente. Esta disminución se asocia a que las bacterias ruminales contaron con la cantidad óptima de cadenas carbonadas para la síntesis de proteína y por consiguiente lograron utilizar el excedente de amoníaco ruminal. El pH ruminal no fue afectado por los tratamientos ($P>0,05$) y el promedio fue de 6,68. La producción de leche aumento linealmente con la suplementación ($P<0,05$), las vacas que consumieron solamente pastura produjeron 18,7% y 28,3% menos que las vacas que fueron suplementadas con 5 y 10 Kg de concentrado, respectivamente. La concentración de grasa en la leche y la urea en leche disminuyeron linealmente con la suplementación ($P<0,05$), en cambio la concentración de proteína aumento linealmente al aumentar el nivel de suplemento ($P<0,05$). Se concluye a partir de este estudio que la disminución en las concentraciones de amoníaco ruminal y la disminución en la concentración de urea láctea,

sugieren que al aumentar los niveles de maíz seco como concentrado hasta 10 Kg por día en la dieta, se mejora la eficiencia de utilización del nitrógeno en los animales suplementados.

En una pradera de gramíneas, Noro *et al.*, (2006) realizaron un experimento para evaluar el efecto del tipo de concentrado sobre indicadores sanguíneos del metabolismo de energía y proteína en vacas lecheras en pastoreo primaveral. Los tratamientos utilizados fueron TG; solo consumo de pradera, TA; concentrado amiláceo a base de cebada (6 Kg), TF; concentrado fibroso a base de coseta de remolacha (6 Kg). La concentración plasmática de urea fue más elevada en las vacas que no recibieron concentrado ($49,08 \text{ mg}\cdot\text{dl}^{-1}$), comparado con las que fueron suplementadas ($P<0,05$), y entre estas últimas fue más baja en el grupo suplementado con concentrado amiláceo ($39,66 \text{ mg}\cdot\text{dl}^{-1}$). Se concluye que la suplementación con concentrado energético ya sea amiláceo o fibroso, favorece el aprovechamiento del nitrógeno de la pradera en el periodo primaveral, disminuyendo la concentración de urea plasmática y el riesgo de presentación de cetosis subclínica en vacas en lactancia a pastoreo.

Broderick (2003) realizó un estudio sobre los efectos de la variación de la proteína cruda (PC) y niveles de energía de la dieta en la producción de vacas en lactancia. En relación al contenido de proteína se investigó el efecto de niveles crecientes; 15,1%; 16,7% y 18,4%. Al aumentar el contenido de PC en la dieta solo se obtuvieron leves aumentos en la producción de leche y contenido proteico ($P<0,05$), por ejemplo la producción de leche con 15,1% de PC fue de $33 \text{ Kg}\cdot\text{día}^{-1}$, en cambio para niveles de 16,7% y 18,4% alcanzó $34,1 \text{ Kg}\cdot\text{día}^{-1}$. El aumento en el contenido de PC en la dieta produjo un aumento significativo ($P<0,05$) en el contenido de urea en la leche de $9,2 \text{ mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ con un 15,1% de PC hasta $15,9 \text{ mg}/\text{dl}$ con 18,4% de PC, así como también se observó un aumento significativo en urea en orina y plasmática ($P<0,05$). En cuanto al efecto de la variación en el nivel de energía, el autor señala que con el mayor contenido energético de la dieta se aumentan significativamente ($P<0,05$) la producción de leche y sus componentes a excepción del contenido graso, y también se reduce la cantidad de urea sanguínea y se mejora la eficiencia de uso de del nitrógeno.

Pulido *et al.*, (2009) realizaron un estudio para evaluar el efecto de diferentes niveles de suplementación con concentrado sobre la respuesta productiva de vacas lecheras con una alta asignación diaria de pradera primaveral. El concentrado energético utilizado contenía un 94% de cebada, 4% de afrecho de raps y un 2% de melaza. Se asignaron cuatro tratamientos, SP; solo consumo de pradera, PSC3; pradera más 3 Kg de concentrado, PSC6, pradera más 6 Kg de concentrado y PSC9; pradera más 9 Kg de concentrado. La producción de leche para los tratamientos SP, PSC3, PSC6 y PSC9 fue de 28,1; 30,8; 31,2 y 28,8 litros·día⁻¹ respectivamente y no se encontraron diferencias significativas ($P>0,05$). En relación a la composición de la leche, la concentración de proteína y urea láctea no mostraron diferencias ($P>0,05$), en cambio la concentración de grasa disminuyó 0,57% con la suplementación ($P<0,05$), pero no tuvo efecto el aumento del nivel de suplementación. El peso vivo y la condición corporal no mostraron diferencias significativas ($P>0,05$).

Con el objetivo de estudiar el efecto de la suplementación con concentrado en vacas lecheras con distintas asignaciones de pradera, Bargo *et al.*, (2002c) prueban cuatro tratamientos generados a partir de la combinación de dos disponibilidades de pradera (alta; 40 y baja 25 Kg·MS vaca día⁻¹) y de dos niveles de concentrado (0 Kg y 1 Kg·4 Kg de leche⁻¹). La suplementación aumento la producción de leche pero el efecto fue mayor cuando las vacas tenían baja disponibilidad de pradera en vez de alta (10,6 v/s 7,7 Kg·día⁻¹). En este estudio la respuesta productiva al concentrado fue mayor en vacas con baja disponibilidad versus alta disponibilidad; 1,36 y 0,96 Kg de leche/ Kg de concentrado.

McEvoy *et al.*, (2008) realizaron un estudio para evaluar el efecto de la asignación diaria de forraje y el nivel de concentrado en la producción de leche y el consumo de MS en vacas en lactancia temprana. Establecieron 2 niveles de asignación de pradera (13 y 17 Kg) y 3 niveles de concentrado (0, 3 y 6 Kg). Cuando la asignación de pradera fue alta (17 Kg) la producción de leche aumento significativamente ($P < 0,05$) en relación a una baja asignación. En términos del efecto del concentrado, la suplementación en el nivel alto (17 Kg) se tradujo en un incrementen la producción de leche pero no se encontró diferencias significativas ($P > 0,05$) entre 3 o 6 Kg de suplemento ofrecido. Los autores señalan que cuando la oferta de la pradera es alta, a inicios de primavera, se puede aumentar la producción de leche tan solo con 3 Kg de concentrado por vaca al día, en cambio en escenarios en que está limitada la oferta de la pradera (13 Kg), 6 Kg de concentrado también pueden garantizar un elevado nivel de producción de leche.

Agle *et al.*, 2010, estudiaron el efecto del nivel de concentrado en la dieta sobre la fermentación ruminal, digestibilidad y las pérdidas de nitrógeno que se producen en vacas lecheras de alta producción. Las dietas contenían (en base a materia seca); 52% (bajo concentrado) y 72% (alto concentrado). El contenido de proteína cruda en ambos tratamientos fue similar, 16,5 y 16,4% respectivamente. En lo que respecta a parámetros ruminales, los autores señalan que el pH ruminal y la concentración de amonio disminuyeron significativamente con el mayor nivel de concentrado ($P < 0,05$), alcanzando con el nivel alto de concentrado un valor de pH de 6,04 y una concentración de amonio ruminal de 11,05 mg·dl⁻¹. La producción de leche aumento significativamente ($P < 0,05$) con el nivel alto de concentrado (36 Kg leche·día⁻¹), para el nivel bajo la producción fue de 33,2 leche·día⁻¹. La concentración de grasa disminuyó significativamente ($P < 0,05$) al aumentar la suplementación, con un bajo nivel de concentrado fue 4,2% y con nivel alto 3,2%. La concentración de proteína láctea aumentó significativamente con el nivel alto de concentrado versus el nivel bajo (3,14 y 3,07%), los autores indican que con el nivel alto de concentrado se disminuye la concentración de amoniaco ruminal y también el flujo de amoniaco, lo que resulta en una mayor eficiencia de la utilización del amoniaco ruminal para la síntesis de proteína de la leche. Se concluye de este estudio que si bien el mayor nivel de concentrado en la dieta mejoró la producción de leche y la eficiencia del nitrógeno en la leche, este aumento en la dieta no fue una estrategia exitosa para mitigar las emisiones de metano ni de amoniaco provenientes del estiércol.

3.6 Hipotesis

En consideración a lo señalado y a la problemática expuesta, se plantean las siguientes hipótesis:

1. La incorporación de niveles crecientes de concentrado en la dieta de vacas consumiendo praderas con alto contenido proteico, disminuye la concentración de NH_3 ruminal en las horas siguientes al consumo (Hipótesis 1).
2. Al incluir niveles crecientes de concentrado, se reduce la concentración de urea sanguínea y láctea (Hipótesis 2).
3. Incluir niveles crecientes concentrado, se traduce en un aumento de la producción de leche y sólidos lácteos (Hipótesis 3).

3.7 Objetivos

Los objetivos que permitirán validar las hipótesis planteadas son los siguientes:

1. Cuantificar los efectos de incorporar niveles crecientes de concentrado en vacas consumiendo praderas de alto contenido proteico, sobre la concentración de amoníaco ruminal luego del consumo de alimento (Hipótesis 1).
2. Cuantificar los efectos de incorporar niveles crecientes de concentrado a vacas lactantes, sobre la concentración de urea sanguínea y láctea (Hipótesis 2).
3. Determinar los efectos de incorporar niveles crecientes de concentrado a vacas lactantes, sobre la producción y composición de la leche (Hipótesis 3).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

Lugar de Estudio.

El ensayo se realizó en la Estación Experimental Oromo, del Departamento de Producción Animal de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, comuna de Purranque, Región de Los Lagos, Chile. Éste predio se ubica en la depresión central de dicha región, a 41° 08' de latitud sur y 73° 09' de longitud oeste, a una altitud de 149 m.s.n.m.

Época y duración del ensayo.

El estudio se llevó a cabo durante el periodo primaveral, específicamente durante los meses de Noviembre y Diciembre del año 2011. Este ensayo tuvo una duración total de 21 días, comenzando el 25 de Noviembre y finalizando el día 15 de Diciembre. El estudio fue dividido en tres periodos experimentales de 7 días.

Animales.

Se utilizaron 15 vacas multíparas de raza Holstein Neozelandés con una producción de leche similar; $28,4 \pm 3,5$ (Promedio \pm Desviación Estándar) y de similares días de lactancia; $104,8 \pm 4,6$ (Promedio \pm Desviación Estándar), al comienzo del ensayo. Adicionalmente se utilizaron 3 vacas de la misma raza, fistuladas y provistas de cánula ruminal, exclusivamente con el objetivo de estudiar los parámetros ruminales, ya que estas vacas no se encontraban en lactancia. Cabe señalar que para la elección de los animales se tomó en cuenta que estos no presentaran problemas sanitarios y que estuvieran en óptimas condiciones de salud.

Concentrado.

El concentrado suministrado a los animales se compuso de maíz (*Zea mays*) y avena (*Avena sativa*) en proporciones iguales, 50% de maíz roleado al vapor y 50% de grano de avena entero. El concentrado fue ofrecido en comederos individuales en la sala de ordeña y su entrega fue parcializada en cantidades iguales según el tratamiento en las dos ordeñas diarias, mañana y tarde.

Pradera.

Los animales consumieron una pradera de tipo permanente, dominada por ballica perenne (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*Trifolium repens*), manejada mediante pastoreo rotativo. La pradera fue dividida con cercos eléctricos en franjas que se asignaron diariamente.

Infraestructura.

La Estación Experimental Oromo puso a disposición la sala de ordeña con control lechero individual, romana, mangas y corrales, cercos eléctricos, laboratorio el que posee equipos de congelación, secado y centrifugación de muestras. Los análisis de las muestras tomadas en terreno fueron analizados en el Laboratorio de Nutrición Animal perteneciente al Departamento de Producción Animal de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Se utilizaron los siguientes equipos:

- Estufa de secado 105°C Heraeus.
- Balanza electrónica, PRECISA 100° - 300M.
- Digestor Tecator DS112, Unidad de Destilación Büchi B-324 Marca Cintec, Unidad de Titulación Metrohm 719, para la determinación de nitrógeno.
- Calorímetro balístico Gallemkamp, para determinación de energía.
- Determinador de fibra VELP Fiwe 6.
- Centrifuga IEC B20A Damon/IEC.

Para las determinaciones de NH₃ y urea sanguínea se utilizó un espectrofotómetro UV-vis Shimadzu, modelo UV-1600, facilitado por el Laboratorio de Fisiología del Estrés en Vegetales, dependiente del Departamento de Producción Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.

4.2 Metodología

Los tratamientos que se realizaron para cuantificar los efectos de incorporar en cantidades crecientes una mezcla de carbohidratos de distinta tasa de degradación, 50% maíz y 50% avena, sobre parámetros metabólicos y productivos son los siguientes:

- Tratamiento 0: Solo consumo de pradera, sin concentrado (Tratamiento control).
- Tratamiento 2: Pastoreo más suplementación con 4 Kg diarios de concentrado compuesto por 50% maíz roleado al vapor y 50% avena entera.
- Tratamiento 3: Pastoreo más suplementación con 6 Kg diarios de concentrado compuesto por 50% maíz roleado al vapor y 50% avena entera.

Para la realización de este experimento se utilizaron 15 vacas de alta producción para el análisis de parámetros sanguíneos y productivos. Para el estudio exclusivo de los parámetros ruminales se utilizaron 3 vacas fistuladas, las cuales no estaban en lactancia durante el ensayo. Los 15 animales en lactancia se mantuvieron durante los tres periodos de duración del ensayo en el mismo tratamiento, en cambio las vacas fistuladas rotaron por todos los tratamientos en cada periodo del ensayo, debido a que el estudio de los parámetros ruminales se realizó bajo un diseño de cuadrado latino. Para la identificación de cada animal dentro de los tratamientos, estos fueron marcados con pintura especial para ganado en ambos lados del dorso.

Los animales de todos los tratamientos junto con las tres vacas fistuladas, pastoreaban en conjunto en la misma franja de pradera, la cual era asignada diariamente, mediante el uso de cerco eléctrico. Con el propósito de evitar efectos de competencia y al mismo tiempo no restringir el consumo, se mantuvo siempre una alta disponibilidad procurando un residuo de alrededor de 1.500 Kg MS·ha⁻¹. La franja fue entregada a los animales cada día después de la ordeña de la tarde.

El concentrado se entregó a los grupos suplementados parcializado en las dos ordeñas diarias. Los animales, incluyendo a las vacas fistuladas, eran sacados del potrero y llevados a la sala de ordeña a las 8:00 am, allí consumían lo que correspondía según su tratamiento en comederos individuales, a la vez eran ordeñados. Luego salían de la sala de ordeña para dirigirse a la romana, en donde eran pesados todos los días, posteriormente se dirigían al potrero en donde pastoreaban hasta las 17:00 pm y eran llevadas nuevamente a la sala de ordeña para recibir la segunda entrega de suplemento y ser ordeñadas. El agua se ofreció a libre disponibilidad, tanto en bebederos en los potreros como en bebederos que se encontraban camino a la sala de ordeña.

4.2.1 Parámetros cuantificados.

Parámetros Ruminales:

1. pH ruminal.
2. Concentración de amoníaco ruminal.

Parámetros sanguíneos:

1. Concentración de urea plasmática.
2. Amoníaco en plasma.

Parámetros productivos:

1. Peso vivo.
2. Consumo pradera.
3. Consumo de concentrado.
4. Producción de leche.
5. Composición de leche:
 - a- Contenido de proteína.
 - b- Contenido de grasa.
 - c- Concentración de urea en la leche.
6. Valor energético de la leche y Producción corregida por energía.

Parámetros de los alimentos.

1. Análisis Proximal y de FDN de alimentos.
 - Avena y maíz.
 - Concentrado (50% maíz y 50% avena).
 - Pradera para los tres periodos.
2. Análisis de degradabilidad
 - Avena y maíz.

- Concentrado (50% maíz y 50% avena).
- Pradera para los tres periodos.

4.3 Técnicas Experimentales.

4.3.1 Parámetros ruminales.

1. *pH ruminal.*

Este valor se determinó en terreno al extraer una muestra de líquido ruminal y analizarlo mediante un pH-metro de bolsillo (Cole-Parmer[®], pHTestr[™] 2). Se realizaron mediciones los dos últimos días de cada periodo, en la mañana y en la tarde.

2. *Concentración de amoníaco ruminal (N-NH₃).*

Se extrajeron muestras de líquido ruminal de las vacas fistuladas los últimos dos días de cada periodo, dos veces al día (mañana y tarde). El líquido inmediatamente después de ser extraído del rumen fue filtrado y luego depositado en tubos de ensayo de 10 ml con ácido sulfúrico 0,1N para evitar la volatilización del amoníaco. Luego de ser recolectadas, las muestras fueron centrifugadas y luego se tomó una alícuota la que fue depositada para su congelación en tubos Eppendorf de 1,5 ml. Posteriormente las muestras fueron analizadas por método de Kaplan (Glick y Kaplan, 1969). La preparación de las muestras se realizó en el Laboratorio de Nutrición Animal, mientras que el análisis se realizó en un espectrofotómetro del Laboratorio de fisiología del estrés en vegetales, ambos laboratorios de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

4.3.2 Parámetros sanguíneos.

1. *Concentración de urea presente en plasma.*

En los dos últimos días de cada periodo se recolectaron las muestras de sangre, una vez al día, luego de la ordeña de la mañana, a todos los animales del ensayo. La sangre fue extraída mediante la técnica de venopunción coccígea y se recolectaron aproximadamente 4 ml por animal en tubos Vacutainer[™] con heparina litio para evitar la coagulación. Inmediatamente luego de recolectadas las muestras se centrifugaron los tubos para provocar la separación del suero de los elementos figurados, el suero queda en la parte superior y se extrae para colocar finalmente en tubos Eppendorf de 1,5 ml, los cuales fueron congelados y analizados posteriormente por colorimetría según el método de Kaplan (Glick y Kaplan, 1969), con la aplicación de la enzima ureasa.

2. *Amoníaco en plasma.*

El amoníaco plasmático se determinó mediante el método de Kaplan, sin la aplicación de ureasa (Glick y Kaplan, 1969).

4.3.3 Parámetros productivos.

1. *Peso vivo.*

El peso vivo se midió en la romana a todos los animales, todos los días después de salir de la sala de ordeña en la mañana.

2. *Consumo de Pradera.*

El consumo de pradera se estimó relacionando los requerimientos totales diarios de energía metabolizable (EM) y el contenido de ésta en la materia seca ingerida, según el método propuesto por Baker (1985). De acuerdo a éste, el consumo individual de pradera está determinado por la ecuación:

$$\text{CMS} = (\text{RTEM}/\text{CEMP})$$

Donde:

CMS (Kg MS·día⁻¹) = Consumo de materia seca (pradera).

RTEM (MJ·día⁻¹) = Requerimiento total individual de EM.

CEMP (MJ·Kg·MS⁻¹) = Contenido de EM de la pradera consumida.

El contenido de energía metabolizable de la pradera consumida fue determinado en el Laboratorio de Nutrición Animal y su cálculo se explica más adelante. Las muestras para realizar el análisis fueron recolectadas todos los días en diferentes horarios, con el fin de obtener una muestra representativa de la pradera.

La cuantificación de RTEM se realizó empleando las ecuaciones compiladas por AFRC (1995), correspondiendo a la sumatoria de los requerimientos de EM de las diferentes funciones fisiológicas, corregidos por el nivel de alimentación, de acuerdo a la ecuación:

$$\text{RTEM (MJ·día}^{-1}\text{)} = C_L \cdot (\text{E}_m/\text{k}_m + \text{E}_l/\text{k}_l + \text{E}_g/\text{Kg})$$

Donde:

RTEM (MJ·día⁻¹) = Requerimientos totales de EM.

C_L = Factor de corrección por nivel de alimentación.

E_m/k_m (MJ·día⁻¹) = Requerimientos de EM para mantención.

E_l/k_l (MJ·día⁻¹) = Requerimientos de EM para lactancia.

E_g/Kg (MJ·día⁻¹) = Requerimientos de EM para cambio de peso durante la lactancia.

Para el caso puntual de este experimento, se utilizó para el cálculo de los requerimientos totales de energía metabolizable, los requerimientos de mantención, lactancia y cambio de peso vivo.

La metabolibilidad de la pastura consumida se estimó como el cociente entre la EM y la energía bruta (AFRC, 1995), de acuerdo a la ecuación:

$$q_m = \text{EM} / \text{EB}$$

Donde:

q_m = Metabolicidad de la pastura

EM = Energía Metabolizable ($\text{MJ}\cdot\text{Kg}\cdot\text{MS}^{-1}$)

EB = Energía Bruta ($\text{MJ}\cdot\text{Kg}\cdot\text{MS}^{-1}$)

La estimación de la eficiencia de utilización de la EM para distintas funciones metabólicas, se realizó mediante el uso de las ecuaciones descritas por AFRC (1995), las que se consideran funciones lineales de q_m .

Eficiencia de utilización de energía metabólica para mantención (k_m).

$$k_m = 0,35 \cdot q_m + 0,503$$

Eficiencia de utilización de energía metabólica para producción de leche (k_l).

$$k_l = 0,35 \cdot q_m + 0,402$$

Eficiencia de utilización de energía metabólica para ganancia de peso (Kg).

$$Kg = 0,95 \cdot k_l$$

Luego de estimar las distintas eficiencias de utilización de la energía metabolizable, se procedió a cuantificar los requerimientos de EM para mantención, lactancia y cambio de peso vivo. El requerimiento de EM para mantención fue calculado a través de la siguiente ecuación:

$$\text{REMM (MJ}\cdot\text{día}^{-1}) = (A + F) / k_m$$

Donde “F” representa el requerimiento energético del metabolismo de ayuno y “A” el derivado de la actividad del animal. F y A, fueron calculados mediante el uso de las siguientes ecuaciones:

$$F (\text{MJ}\cdot\text{día}^{-1}) = 0,53 \cdot (PV \cdot 1,08^{-1})^{0,67}$$

$$A (\text{MJ}\cdot\text{día}^{-1}) = 0,0095 \cdot PV$$

Donde:

PV = Peso vivo (Kg).

El requerimiento de EM para lactancia fue calculado a través de la siguiente ecuación:

$$\text{REML (MJ}\cdot\text{día}^{-1}) = PL \cdot (E_l/k_l)$$

Donde:

PL = Producción de leche ($\text{Kg}\cdot\text{d}^{-1}$).

E_l indica el valor energético de un kilogramo de leche. Según Tyrrell y Reid (1965), éste depende del contenido de grasa (G) y proteína láctea (P), ambos expresados en $\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$, de acuerdo a la ecuación:

$$E_l = 0,948 + 0,0376 \cdot G + 0,0209 \cdot P$$

Para estimar el REMCP se asume un contenido de energía neta de $19,0 \text{ MJ}\cdot\text{Kg}^{-1}$ PV (AFRC, 1995). Al existir aumento de peso ($\text{CPV} > 0$), los requerimientos están dados por:

$$\text{REMCP (MJ} \cdot \text{día}^{-1}) = (\text{CPV} \cdot 19,0) / \text{Kg}$$

Donde:

CPV = Cambio de peso ($\text{Kg} \cdot \text{d}^{-1}$) de la vaca.

Finalmente, el sistema AFRC (1995) incluye un factor de corrección por nivel de alimentación (CL) para estimar REMT. La EM realmente utilizable por el animal se reduce un 1,8% por cada múltiplo por sobre los REMM, debido por una mayor tasa de pasaje del alimento por el rumen y un menor tiempo de retención del mismo. Con el propósito de calcular dicho factor de corrección, se empleó la siguiente ecuación:

$$\text{CL} = 1 + 0,018 \cdot (\text{L} - 1)$$

Donde L corresponde al nivel de alimentación, el cual representa el cociente entre los requerimientos de energía metabolizable totales y los requerimientos de mantención.

Luego de estimar el consumo de materia seca total de pradera, se calculó la tasa de sustitución (TS) de los animales en cada tratamiento (Kellaway y Porta 1993). Esta se obtuvo a través de la siguiente ecuación:

$$\text{TS (Kg/Kg)} = \frac{\text{CMPS}_{\text{ns}} - \text{CMST}_{\text{s}}}{\text{CMSS}}$$

Donde CMPS_{ns} , corresponde al consumo de materia seca de pradera en las vacas no suplementadas, CMST_{s} es el consumo de materia seca total en vacas suplementadas y CMSS corresponde al consumo de materia seca de suplemento.

3. *Consumo de concentrado.*

El consumo de la mezcla de maíz y avena se estimó diariamente para todos los animales, por la diferencia que existió entre el concentrado ofrecido a los animales (según cada tratamiento) y lo rechazado. El residuo dejado por los animales en cada comedero individual fue pesado y registrado.

4. *Producción de leche.*

La producción de leche fue medida en la sala de ordeña con control lechero individual los últimos cuatro días de cada periodo a todas las vacas en producción. La sumatoria de la producción de las dos ordeñas, mañana y tarde, se consideró como la producción diaria total.

5. *Composición de la leche.*

Se tomaron muestras individuales de leche la tarde del cuarto día de cada periodo y la mañana del quinto día, con esto se logró obtener una muestra compuesta de la leche. Este muestreo se realizó en todos los animales en producción. Las muestras fueron colectadas en frascos especiales para esto y se conservaron en frío para luego enviar a análisis al Laboratorio de Calidad de la Leche de Cooprinsem. Este laboratorio cuenta con equipos

Foss Milkoscan, los cuales utilizan un espectrofotómetro automatizado para medir el contenido de proteína ($\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$), grasa ($\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$) y urea ($\text{mg} \cdot \text{lt}^{-1}$).

6. *Valor energético de la leche y Producción corregida por energía.*

La ecuación utilizada para determinar el valor energético de un kilogramo de leche (VEKg) fue:

$$\mathbf{VEKg (MJ \cdot Kg^{-1}) = 0,948 + 0,0376 \cdot G + 0,0209 \cdot P}$$

Donde G representa el contenido de grasa láctea y P el contenido proteico.

El valor energético de la producción total (VEpt) fue calculado según la siguiente fórmula:

$$\mathbf{VEpt (MJ) = PL \cdot VEKg}$$

Donde PL corresponde a la producción de leche.

Teniendo en cuenta la producción de leche sin corregir, se calculó la producción corregida por energía (PLCE), en la cual se asume que el contenido energético de un Kg de leche corregido por energía tiene un contenido energético de $3,136 \text{ MJ} \cdot \text{Kg}^{-1}$ (Tyrrell y Reid, 1965), expresado en la siguiente ecuación:

$$\mathbf{PLCE (Kg) = VEpt / 3,136}$$

4.3.4 Parámetros de los alimentos.

1. *Análisis químico de alimentos.*

El análisis químico de la pastura y del concentrado, se realizó luego de finalizado el periodo experimental en el Laboratorio de Nutrición Animal del Departamento de Producción Animal. Para caracterizar químicamente la pradera ingerida, en cada período experimental, se obtuvo una muestra compuesta, lograda de muestreos diarios, mediante recolección manual, y varias veces en el día durante cada periodo. En el caso de las muestras de concentrados, se tomó una muestra de diferentes sacos de alimentos y se generó una muestra compuesta. El contenido de MS (materia seca) se determinó por pérdida de peso en estufa a $105 \text{ }^\circ\text{C}$ por 12 horas (A.O.A.C, 2000), las cenizas totales (CT) mediante calcinación en mufla a $550\text{-}600 \text{ }^\circ\text{C}$ por 5 horas (A.O.A.C, 2000); la proteína cruda mediante el método de Micro Kjeldhal (Buchi Laboratory-Techniques); la energía bruta mediante la combustión en calorímetro de bomba balística y finalmente se determinó la fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) por el método de Van Soest (Van Soest *et al.*, 1991).

Adicionalmente se determinó la digestibilidad aparente de la materia seca (DAPMS) según el método propuesto por Cerda *et al.*, (1987), previa determinación de la digestibilidad enzimática de la materia seca (DENZMS), la fórmula empleada fue:

$$\%DAPMS = 2,61 + 1.01 \cdot DENZMS$$

Para el cálculo de energía digestible (ED) y para la Energía Metabolizable (EM) se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$ED = EB \cdot \% DAPMS$$

Donde:

EB: Energía Bruta (expresada en $\text{Mcal} \cdot \text{Kg}^{-1}$ MS) y DAPMS: Digestibilidad aparente de la materia seca (expresada en % de materia seca).

$$EM = ED \cdot 0,82$$

Donde:

ED: Energía Digestible y 0,82 (NRC, 2001): Factor de conversión.

2. Análisis de Degradabilidad *in situ*:

Este análisis fue realizado después de finalizado el periodo experimental, mediante la técnica de incubación “*in situ*” propuesta por Orskov *et al.*, (1980). Se determinó la degradabilidad de la materia seca y de la proteína. Se analizó la degradabilidad de la mezcla, de sus componentes (avena y maíz) y de la pradera en cada uno de los tres periodos experimentales. Para este análisis se utilizaron las 3 vacas fistuladas. Se incubaron 3 bolsas por animal en cada tiempo, cada una con 4 gramos de muestra. Las bolsas fueron incubadas en el rumen durante 0-2-4-6-8-12-24 horas. Post incubación las muestras fueron retiradas, lavadas y secadas a 105°C durante 48 horas. En los residuos obtenidos, se determinó la cantidad de materia seca (MS) y de proteína bruta (PB).

Para calcular el % de desaparición de materia seca (MS) se empleó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de desaparición de MS} = (((MS_i) - (MS_f)) / (MS_i)) \cdot 100$$

En donde:

MS_i=Materia seca inicial (g)

MS_f= Materia seca final (g)

Luego para el cálculo del % de desaparición de proteína bruta, se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de desaparición de PB} = (((MS_i \cdot PB_i) - (MS_f \cdot PB_f)) / (MS_i \cdot PB_i)) \cdot 100$$

En donde:

PB_i= Proteína bruta inicial (%)

PB_f= Proteína bruta final (%)

Los datos de degradabilidad obtenidos para cada tiempo de incubación se ajustaron a la ecuación exponencial de Orskov y Mc Donald (1979):

$$P = a + b(1 - e^{-ct})$$

Donde:

P= Degradabilidad potencial al tiempo “t”

a= Fracción soluble (al tiempo 0)

b= Fracción insoluble, potencialmente degradable

c= Constante para la tasa de degradación

t= Tiempo de incubación

a+b= Degradación máxima potencial (asíntota).

Dado que el método “*in situ*” (sin corrección de tasa de pasaje) sobrestima los valores de degradabilidad, se calculó la degradabilidad ruminal efectiva, al incorporar un valor de tasa de pasaje de $0,08 \text{ h}^{-1}$, utilizado para vacas de alta producción. Se señala a continuación la ecuación que fue empleada:

$$\text{Degradabilidad efectiva} = a + ((b \cdot c) / (c + k))$$

Donde:

a, b, c = Definidos en la ecuación anterior.

k= Tasa fraccional de pasaje desde el rumen (k=0,08).

4.4 Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Para el estudio de parámetros ruminales en las vacas fistuladas, se utilizó un diseño de cuadrado latino (DCL) de 3x3, con tres periodos de evaluación de 7 días cada uno, tres tratamientos y una vaca por tratamiento. La unidad experimental corresponde a la vaca-periodo. Se detalla el modelo a continuación:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + f_j + c_k + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = lectura del tratamiento i-ésimo en la fila j-ésima y en la k-ésima columna
 μ = media poblacional de la variable respuesta
 τ_i = efecto del tratamiento "i"
 f_j = efecto del periodo "j"
 c_k = efecto de la vaca "k"
 ε_{ijk} = residual, normalmente distribuido con media 0 y varianzas constantes.

El análisis de parámetros sanguíneos y productivos se realizó en las vacas no fistuladas, se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con medidas repetidas para corregir la dependencia entre las observaciones en un mismo animal, con tres tratamientos y 5 vacas por tratamiento, en donde la unidad experimental correspondió a la vaca. La duración de este ensayo fue de 21 días y se realizó en forma paralela al ensayo en vacas fistuladas. Se detalla el modelo a continuación:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + C_k(\tau_i) + P_j + \tau P_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = variable respuesta en la k-ésima vaca en el i-ésimo tratamiento en la j-ésima repetición
 μ = media general
 τ_i = efecto del tratamiento "i"
 $C_k(\tau_i)$ = Efecto de la k-ésima vaca anidada dentro del i-ésimo tratamiento
 P_j = efecto del periodo "j"
 τP_{ij} = Interacción entre el i-ésimo tratamiento y el j-ésimo Periodo
 ε_{ijk} = residual, normalmente distribuido con media 0 y varianzas constantes

Para las pruebas de hipótesis se usó como error experimental, es decir denominador de las pruebas de F, el efecto de la vaca anidada dentro del tratamiento. Esto parcialmente remueve la correlación entre las medidas realizadas en una misma vaca.

Análisis Estadísticos

Para los dos diseños que se realizaron en este ensayo, las variables y parámetros de interés se analizaron usando el módulo PROC GLM del software estadístico SAS, realizándose un análisis de varianza paramétrico (ANDEVA) de los datos obtenidos. Las

comparaciones que resultaron significativas ($P < 0,05$) fueron sometidas a la prueba de Duncan, en el caso del diseño completamente al azar, y a una comparación de medias a través de t de Student, para el diseño cuadrado latino. La correlación de Pearson fue usada para conocer la asociación entre variables de interés, adicionalmente a esto, se generaron ecuaciones de regresión lineal.

En el estudio de degradabilidad los datos obtenidos se ajustaron a la ecuación de degradabilidad propuesta por Orskov y Mc Donald (1979) y los parámetros que determinan las curvas (a, b y c) fueron comparados mediante una prueba de hipótesis de igualdad de medias, aplicando la distribución t de Student, utilizando el siguiente estadístico:

$$t = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1) S_1^2 + (n_2 - 1) S_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

En donde, X_1 y X_2 , corresponden a los coeficientes de la ecuación de degradabilidad que se van a comparar, n_1 y n_2 son los grados de libertad de cada coeficiente y finalmente S_1^2 y S_2^2 , es la varianza de los coeficientes (Di Rienzo *et al.*, 2005).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Composición química de la pradera y del suplemento.

En el Cuadro 1, se observa la composición química del suplemento energético y de la pradera en los tres periodos de duración del ensayo. En la pradera, se obtuvo valores de proteína bruta entre 16,3% y 19,9%. Los valores concuerdan con el valor de proteína bruta reportado por Teuber y Balocchi (2003), de 19,8% para una pradera permanente polifítica del sur de Chile. Por otro lado, los valores de proteína bruta obtenidos en este ensayo son inferiores a los reportados por Parga y Lanuza (2006) de 22% y por Noro *et al.*, (2006) de 25% para praderas primaverales del sur de Chile. Para la pradera, los valores de FDN fueron similares a los señalados por Teuber y Balocchi (2003) de 50,6% y 52,3%, durante los meses de Octubre y Noviembre. Los valores de FDA para la pradera fueron similares a los reportados por Sepúlveda *et al.*, (2011) de 27,4 % pero superiores a los señalados por Pulido *et al.*, (2009) de 25,3%.

Cuadro 1. Composición química del suplemento energético y de la pradera en cada periodo.

Componentes	Suplemento	Maíz	Avena	P1	P2	P3
Materia Seca (%)	90,7	90,9	90,3	12,8	13,1	12,9
Proteína Bruta (%)	8,2	7,1	9,6	19,9	18,9	16,3
Energía Metabolizable (MJ·Kg ⁻¹)	11,9	13,8	14,0	11,0	12,4	10,7
FDN (%)	18,5	15,4	24,5	50,8	52,3	52,4
FDA (%)	5,7	2,7	11,7	27,3	29,6	29,6
Cenizas (%)	1,5	1,1	2,2	8,1	7,9	7,5
DAPMS (%)	77,9	84,9	76,9	68,3	72,4	66,3

Suplemento: 50% Maíz roleado al vapor-50% Avena entera, P1: Pradera periodo 1, P2: Pradera periodo 2, P3: Pradera periodo 3. Análisis realizados en Laboratorio de Nutrición Animal, Departamento Producción Animal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.

Los valores de energía metabolizable reportados en este ensayo para los ingredientes del suplemento, maíz roleado al vapor y grano entero de avena, fueron respectivamente de 13,8 y 14,0 MJ·Kg⁻¹, estos valores concuerdan con lo obtenido por Vyhmeister (2005), de 14,0 MJ·Kg⁻¹ para maíz roleado al vapor y en el caso del grano entero de avena el valor es similar a lo señalado por Anrique *et al.*, (2010) de 14,0 MJ·Kg⁻¹. Respecto al valor de energía metabolizable para el suplemento energético utilizado en este ensayo, compuesto de maíz y avena en igual proporción, Carreño (2010) obtuvo un valor de energía metabolizable de 10,6 MJ·Kg⁻¹, similar al valor obtenido en el presente ensayo.

5.2 Degradabilidad de la pradera

Los parámetros de las curvas de degradación ruminal de la materia seca y de la proteína de las muestras de forraje obtenidas en cada periodo se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Constantes de degradación ruminal y degradabilidad efectiva para la pradera durante el ensayo.

	Constantes de degradación ruminal ¹				
	a (%)	b (%)	c (% h ⁻¹)	a+b	R ²
	Constantes degradación materia seca				
Periodo 1	34,62 a	62,54 a	0,06 a	97,17	96,81
Periodo 2	33,14 b	60,79 a	0,07 ba	93,93	95,34
Periodo 3	35,53 ca	60,10 a	0,05 c	95,63	89,07
	Constantes degradación proteína bruta				
Periodo 1	35,82 a	57,20 a	0,10 a	93,02	92,30
Periodo 2	28,86 b	69,28 b	0,08 a	98,14	86,96
Periodo 3	33,92 ca	59,37 ca	0,08 a	93,30	86,43

Letras distintas en la misma columna señalan diferencias significativas ($P < 0,05$), según prueba de t de Student.

¹ a= Fracción soluble; b= Fracción potencialmente degradable; c= Constante para la tasa de degradación y a+b= Degradación máxima potencial.

Las constantes degradativas “a” y “c” para la materia seca de la pradera, presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre los periodos de realización del ensayo (Cuadro 2 y Figura 1). La fracción soluble mostró el mayor valor en la semana 3, y la velocidad de degradación presentó mayores valores en el periodo 1 y periodo 2. En relación a la fracción potencialmente degradable “b”, esta no presentó diferencias significativas ($P > 0,05$) entre las semanas del ensayo. El potencial de degradación a+b presentó el mayor valor en el periodo 1 del experimento. Los valores de los parámetros reportados en este ensayo para la pradera, son muy similares a los obtenidos por Carreño (2010) para una pradera de *Ballica perenne*, quien indica un valor promedio para la fracción “a” de 39,1%, para “b” de 57,1 %, para “c” de 0,06 % h⁻¹ y para a+b de 96 %.

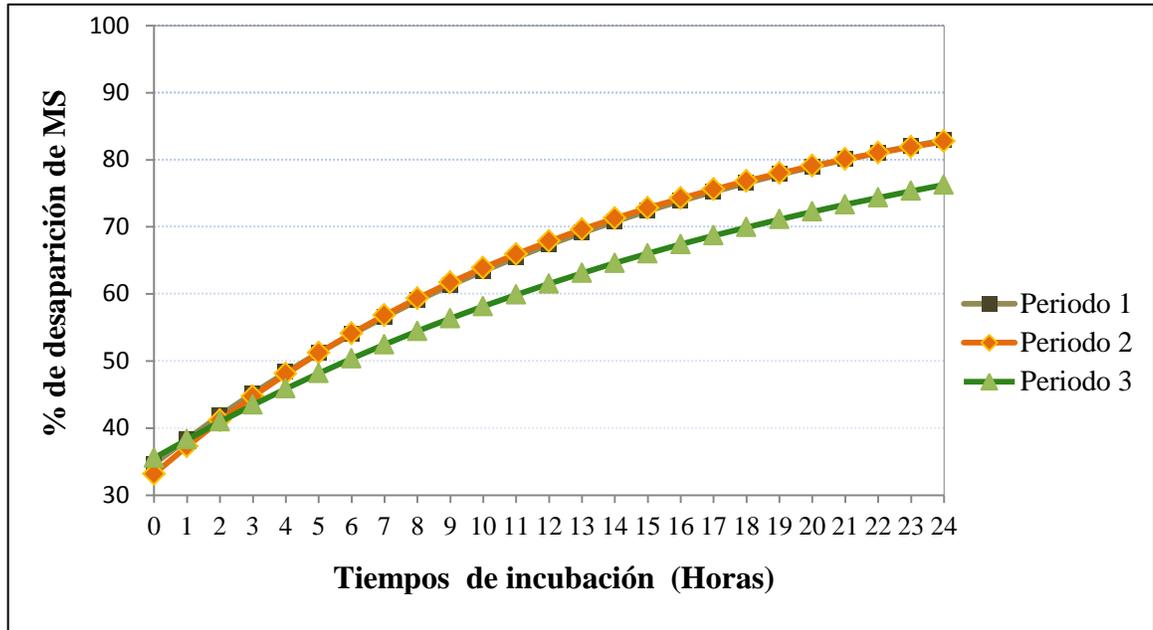


Figura 1. Degradabilidad de la materia seca de la pradera en cada periodo.

En relación a las constantes de degradación de la proteína de la pradera, las fracciones “a” y “b” presentaron diferencias significativas entre las semanas del ensayo ($P < 0,05$) (Cuadro 2 y Figura 2). La fracción soluble presentó el mayor valor en la semana 1, seguido por la semana 3, mientras que la fracción potencialmente degradable presentó un mayor valor en la semana 2 del ensayo. Durante las diferentes semanas del ensayo no se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$) en la velocidad de degradación de la proteína bruta. El potencial de degradación a+b presentó el valor más elevado en la semana 2 del experimento. Lo anterior, evidencia en esta pradera un contenido proteico de alta degradabilidad, característico de una pradera con una gran proporción de hojas en relación a tallos, como lo es una pradera primaveral. Pulido et al., 2009, reportan valores de “a”, “b”, “c” y a+b de 30,04%; 63,07%; 0,054 % h⁻¹ y 93,11% respectivamente para una pradera del Sur de Chile en época primaveral, estos valores son similares a los obtenidos en este ensayo.

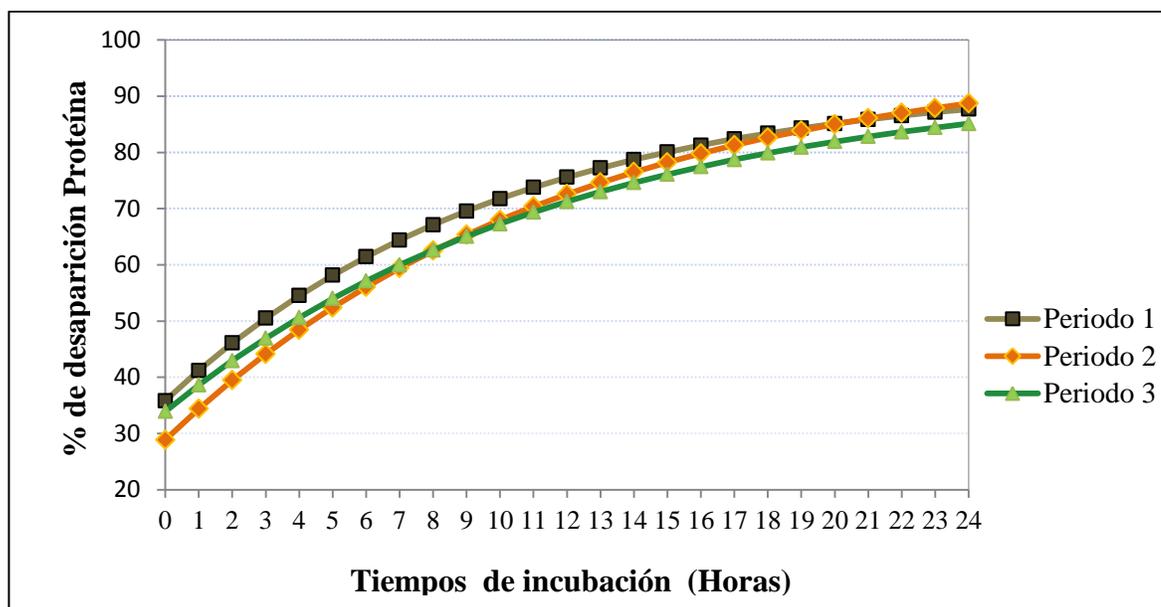


Figura 2. Degradabilidad de la proteína bruta de la pradera en cada periodo.

5.3 Degradabilidad de los cereales y mezcla de carbohidratos.

En el Cuadro 3 se observan las características de la cinética degradativa a nivel ruminal de los cereales que fueron utilizados en el ensayo. Las constantes de degradación de la materia seca “a”, “b” y “c” presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre los cereales y el suplemento (Cuadro 3), esto se puede observar de manera gráfica en las curvas de degradación presentadas en la Figura 3. El suplemento presentó para todas las constantes valores inferiores a los de la avena pero superiores a los reportados para el maíz.

Cuadro 3. Constantes de degradación ruminal y degradabilidad efectiva para la avena, maíz y el suplemento utilizado en el ensayo.

Constantes de degradación ruminal ¹					
	a (%)	b (%)	c (% h ⁻¹)	a+b	R ²
Constantes degradación materia seca					
Avena	69,17 a	14,05 a	0,74 a	83,22	92,64
Maíz	53,74 b	38,04 b	0,06 b	91,78	67,47
Suplemento ²	63,10 c	26,01 c	0,13 c	89,11	88,89

Letras distintas en la misma columna señalan diferencias significativas ($P < 0,05$), según prueba de t de Student.

¹ a= Fracción soluble; b= Fracción potencialmente degradable; c= Constante para la tasa de degradación y a+b= Degradación máxima potencial.

² Mezcla de carbohidratos, compuesta por 50% avena y 50% maíz.

El grano de avena presentó un alto valor de la fracción soluble “a”, es decir su degradación en las primeras 5 horas fue alta, el comparación a la que se produjo en el maíz roleadado al vapor (Cuadro 3). En relación a la velocidad de degradación, el valor más alto obtenido fue el de la avena, seguido por el suplemento y en último lugar el maíz. Los valores de los parámetros reportados en ese experimento son muy similares a los que obtuvo Carreño (2010) para grano de avena, quien señala un valor para “a” de 68,27%; “b” de 17,75%, a+b de 83,8 % y una velocidad de degradación de 0,13 horas⁻¹.

En la Figura 3, se puede observar que el maíz presenta una degradabilidad más lenta con una entrega gradual de energía y cadenas carbonadas, a diferencia de lo que ocurre con el grano de avena. Esto provoca que a nivel ruminal las bacterias puedan captar mayor cantidad de amoníaco, disminuyendo su concentración en el rumen. Velásquez (2007), reporta un valor de la fracción soluble para maíz roleadado al vapor de 37,3 %, inferior a lo reportado en este ensayo, de “b” de 51,9%, superior a lo reportado en el presente y una velocidad de degradación de 0,08 horas⁻¹. Los valores de parámetros de degradación del maíz obtenidos en este estudio se acercan más a los valores indicados por Reis y Combs (2000), quienes señalan para un concentrado de maíz un valor de “a” de 48,6% y “b” igual a 36,3%.

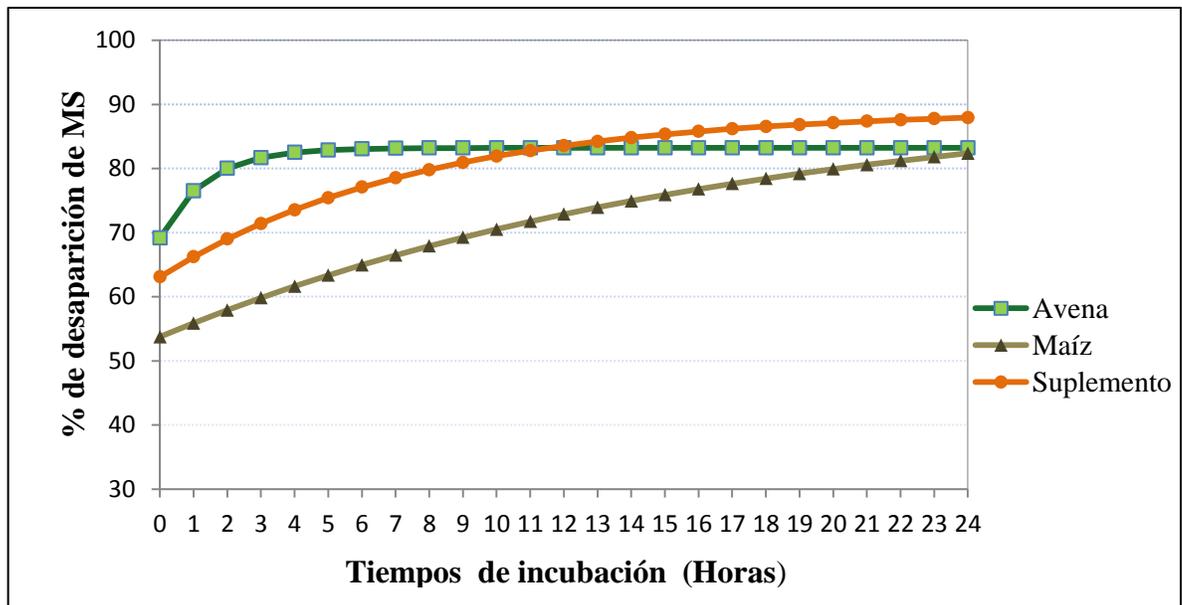


Figura 3. Degradabilidad de la materia seca de la avena, maíz y del suplemento.

5.4 Degradabilidad real o efectiva.

Los valores de degradabilidad real o efectiva de la pradera, de los cereales y del suplemento se observan en el Cuadro 4. Los valores de degradabilidad real obtenido para la pradera es similar a lo reportado por Pulido *et al.*, 2009, quienes indican un valor de 66,2 % para proteína y de un 66,2 % para materia seca.

Cuadro 4. Degradabilidad real o efectiva.

	Proteína pradera*	MS Pradera*	Avena	Maíz	Suplemento ¹
Degradabilidad real (%) ²	65,23	60,44	81,85	69,76	79,13

¹ Mezcla de carbohidratos, compuesta por 50% avena y 50% maíz.

² Valores de degradabilidad real calculados utilizando una tasa de pasaje de 0,08 horas⁻¹.

*Valores corresponden al promedio de las tres semanas del ensayo.

Los valores reportados para grano de avena y para la mezcla de carbohidratos, son muy similares a los que obtiene Carreño (2010), quien indica valores de degradabilidad real de 78,7% y de 75,9% respectivamente. En el caso del maíz roleado al vapor, los valores son similares a los que reporta Velásquez (2007), de 64,07% e idéntico al reportado por Carreño (2010) de 69,6%, con una tasa de pasaje del 0,08 horas⁻¹.

5.5 Consumo de materia seca.

En el Cuadro 5, se señala la estimación realizada a partir de un método indirecto, descrito en la metodología, para estimar el consumo de materia seca realizado por los animales no fistulados durante el ensayo.

Cuadro 5. Consumo de materia seca (CMS) en vacas no fistuladas durante el ensayo. Valores corresponden al promedio \pm desviación estándar.

Variables	Tratamientos		
	T0	T2	T3
CMS pradera (Kg MS/ vaca/día)	20,10 \pm 1,66 a	20,73 \pm 1,52 a	19,02 \pm 1,58 a
CMS pradera/100 Kg de Peso Vivo	3,78 \pm 0,41 a	3,90 \pm 0,28 a	3,48 \pm 0,36 a
CMS concentrado (Kg MS/vaca/día)	-	3,4	5,2
CMS total ¹ (Kg MS/ vaca/día)	20,10 \pm 1,66 a	24,09 \pm 1,52 b	24,17 \pm 1,58 b
Tasa de sustitución ²	-	-0,19	0,2

Letras distintas en la misma fila señalan diferencias significativas ($P < 0,05$), según prueba de Duncan.

¹ Consumo de pradera más consumo de concentrado.

² Kg MS pradera/ Kg Concentrado.

El consumo de materia seca de pradera (CMSP) no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($P > 0,05$). Sin embargo, cuando las vacas en pastoreo reciben suplementos, el consumo de MS de pradera generalmente tiene a disminuir, aún más en praderas de alta disponibilidad y calidad, lo que no se evidenció en este ensayo. Esta disminución en el consumo de pradera por cada Kg de concentrado es conocida como tasa de sustitución (Kellaway y Porta 1993). Al comparar los CMSP expresados en relación al peso vivo, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos de suplementación ($P > 0,05$), de todas formas los valores obtenidos se encuentran dentro del

rango señalado en la literatura para consumo de materia seca de pradera del 2,9% al 3,5 % del peso vivo (Bargo *et al.*, 2003).

El consumo de concentrado fue alto para los dos grupos que recibieron suplementación, el tratamiento que recibió 4 Kg diarios consumió en promedio un 85% de lo ofrecido, mientras que el tratamiento de 6 Kg diarios realizó un consumo promedio del 86,6% del total ofrecido. Este alto consumo del concentrado fue logrado gracias a las características físicas de los cereales que contenía la mezcla, ya que el maíz se proporcionó roleado al vapor y la avena entera.

En relación al consumo de materia seca total (CMST), este si presentó diferencias significativas ($P < 0,05$) entre tratamientos, el menor consumo fue el reportado para el tratamiento control, mientras que los grupos suplementados presentaron un mayor consumo total de materia seca pero sin diferencia entre ambos. Este aumento en el CMST coincide con lo reportado por Reis y Combs (2000), quienes señalan un aumento lineal en el consumo total de materia seca cuando aumenta la suplementación con granos, pero por otro lado observan una disminución en el consumo de pradera, lo que no ocurrió en el presente ensayo. Balocchi *et al.*, (2002), en un ensayo en vacas Holstein de similares características a las de este ensayo y en época primaveral en el Sur de Chile, reporta un aumento significativo en el consumo total de materia seca de $16,3 \text{ Kg MS} \cdot \text{día}^{-1}$ a $18,8 \text{ Kg MS} \cdot \text{día}^{-1}$, respecto al tratamiento control, al suministrar un concentrado en base a cereal, en cantidad de 6 Kg diarios.

La tasa de sustitución se define como los kilos de materia seca de forraje que el animal deja de consumir por cada kilo de concentrado añadido a la ración, el valor de la tasa de sustitución depende de la calidad del forraje y de la cantidad de concentrado añadida. Por lo general, la tasa de sustitución aumenta al aumentar el aporte de concentrado, lo que en este ensayo si ocurrió para el tratamiento de 6 Kg de concentrado diario, ya que los animales dejaron de comer 0,2 Kg de pradera por cada Kg de concentrado. En cambio las vacas del grupo que recibió 4 Kg de concentrado diario presentaron una tasa de sustitución negativa, es decir el consumo de materia seca de pradera en este grupo fue mayor que el consumo de las vacas no suplementadas. Lo anterior, ocurre generalmente en animales que consumen forrajes de muy baja calidad, condición diferente a la de este ensayo ya que la pradera presentó alta degradabilidad y calidad. Esta tasa de sustitución negativa se puede atribuir a que el aporte de concentrado en este grupo favoreció a la flora ruminal, provocando un mayor desarrollo y mayor eficacia en la degradación de la ración, acelerando la velocidad del tránsito digestivo y por tanto la ingestión de alimento. Los valores reportados en este ensayo son inferiores a los señalados por Riquelme y Pulido (2008), quienes obtuvieron valores de 0,92 y de 1,17, para suplementación de 3 y 6 Kg respectivamente y en condiciones similares a las de este ensayo.

5.6 Peso vivo.

El peso vivo, peso metabólico, cambio de peso vivo y condición corporal de las vacas no fistuladas se muestra en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Peso vivo, cambio de peso vivo y condición corporal en las vacas no fistuladas. Valores corresponden al promedio mínimo cuadrado \pm desviación estándar.

Parámetros	Tratamientos		
	T0	T2	T3
Peso vivo (Kg)	534 \pm 30 a	532 \pm 23 a	547 \pm 29 a
Peso Metabólico ¹ (Kg)	111 \pm 4,8 a	111 \pm 3,6 a	113 \pm 4,6 a
Peso inicial (Kg)	534 \pm 20 a	528 \pm 23 a	548 \pm 29 a
Peso final (Kg)	540 \pm 30 a	540 \pm 15 a	559 \pm 36 a
Cambio peso vivo (Kg día ⁻¹)	0,3 \pm 1,1 a	0,6 \pm 0,4 a	0,6 \pm 1,0 a
Condición Corporal (puntos)	2,3 \pm 0,1 a	2,5 \pm 0,15 b	2,5 \pm 0,15 b

Letras distintas en la misma fila señalan diferencias significativas ($P < 0,05$), según prueba de Duncan.

¹ Peso metabólico corresponde a Peso vivo^{0,75}.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el peso vivo promedio durante el ensayo en respuesta a los diferentes tratamientos de suplementación ($P < 0,05$). Este resultado es consistente con lo reportado por diversos autores, como Delahoy *et al.*, (2003) y Pulido *et al.*, (2009), los que tampoco obtuvieron diferencias significativas en el peso vivo al suplementar vacas en pastoreo con niveles de suplementación con cereales dentro del rango utilizado en este ensayo. Por lo general en este tipo de estudios no existe efecto de la suplementación en el peso vivo promedio por tratamiento, esto podría ser explicado por la corta duración de los ensayos (Hoden *et al.*, 1991) o por los efectos confundidos que provoca el llenado intestinal al momento del pesaje de los animales (Baker y Leaver, 1986).

En la Figura 4, se observa la evolución en el peso vivo de los animales en cada uno de los tratamientos. Se aprecia que durante los dos primeros días del ensayo, los tres grupos de animales bajaron bruscamente el peso vivo, para luego aumentar desde el día 3. Esta disminución en el peso es atribuible al estrés que se produjo en todos los grupos al inicio del ensayo por cambios en su rutina diaria, manejos y alimentación. Luego de esta disminución se observa la tendencia en todos los grupos a un aumento en el peso vivo, concordante a la etapa de lactancia en la que se encontraban las vacas, lactancia media, en donde el peso vivo comienza a aumentar junto con el consumo de alimento.

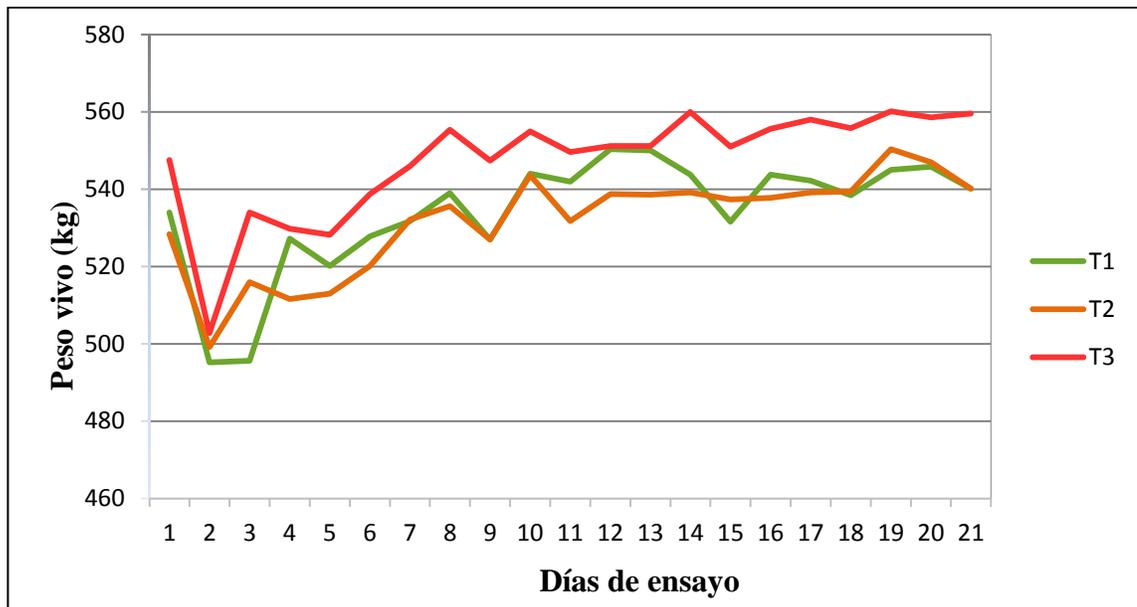


Figura 4. Evolución del peso vivo a través del ensayo para los distintos tratamientos.

Los animales al inicio y a final del ensayo presentaron pesos vivo promedio similares estadísticamente entre tratamientos ($P < 0,05$). El peso metabólico, tampoco mostró diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de suplementación ($P < 0,05$).

No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos para cambio de peso vivo ($P < 0,05$), de todas formas los tratamientos que recibieron suplementación presentaron el mayor valor de $0,6 \text{ Kg} \cdot \text{día}^{-1}$. Este resultado es consistente con el reportado por Pulido *et al.*, (2009), para niveles similares de suplementación y en condiciones semejantes a las de este ensayo, quienes no observan un aumento significativo en el cambio de peso vivo al recibir suplementación. Por otro lado, diversos autores entre ellos, Pulido *et al.*, (1999) y Aguilera (2003), reportan que los animales suplementados tienen mayores ganancias diarias de peso que los no suplementados probablemente por el mayor contenido de energía metabolizable que aportan las raciones con concentrados, lo que no se logró evidenciar estadísticamente en este ensayo.

Finalmente, el único parámetro que presentó diferencias estadísticamente significativas fue la condición corporal ($P > 0,05$). Soriano *et al.*, (2001), reportan un leve aumento en la condición corporal en vacas que fueron suplementadas. Según este autor, esto se debería a que las vacas suplementadas consumen una mayor cantidad de energía que los animales que se encuentran solo a pastoreo, concordando con lo reportado por Kolver y Muller (1998), quienes señalan que cambios en la condición corporal están relacionados con el consumo total de energía, el cual produce un incremento de ácido propiónico en el rumen, incrementando los niveles de glucosa e insulina en la sangre. El aumento en la actividad de la insulina puede estimular la lipogénesis y disminuir la lipólisis, resultando en una

disminución de la cantidad de triglicéridos plasmáticos ofrecidos a la glándula mamaria, produciendo una mayor cantidad de grasa corporal (Beukelen, 1983).

5.7 Parámetros ruminales.

En el Cuadro 7, se observa el efecto del nivel de suplementación energética sobre los parámetros ruminales, NH_3 y pH, en respuesta a los diferentes tratamientos del ensayo.

Cuadro 7. Efecto del nivel de concentrado sobre parámetros ruminales. Valores corresponden al promedio \pm desviación estándar.

Parámetros	Tratamientos		
	T0	T2	T3
NH_3 Ruminal ($\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$)	17,7 \pm 3,3 a	15,0 \pm 1,6 b	13,9 \pm 0,2 b
NH_3 Ruminal AM	17,4 \pm 2,7 a A	14,7 \pm 2,6 b A	14,0 \pm 1,2 b A
NH_3 Ruminal PM	17,9 \pm 3,9 a A	15,4 \pm 3,0 a A	13,9 \pm 0,9 a A
pH	6,5 \pm 0,2 a	6,3 \pm 0,1 a	6,2 \pm 0,3 a

Letras distintas en la misma fila señalan diferencias significativas ($P < 0,05$), según prueba de t de Student. Letras mayúsculas distintas en la misma columna señalan diferencias significativas ($P < 0,05$).

5.7.1 Amoniaco Ruminal.

Para la variable NH_3 ruminal se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$). Los tratamientos que recibieron suplementación de 4 y 6 Kg de concentrado presentaron los valores promedio más bajos de NH_3 ruminal, siendo el menor valor el obtenido para el tratamiento de 6 Kg de concentrado. La reducción en la concentración de NH_3 con niveles altos de concentrado compuesto por carbohidratos no estructurales, se explicaría ya que existe una mayor utilización del NH_3 por parte de las bacterias ruminales para la síntesis de proteína microbiana, ya que la mezcla logra proporcionar energía y cadenas carbonadas, durante las primeras horas de manera más proporcionada, ya que la degradabilidad y entrega de cadenas carbonadas por parte de la avena es mayor en las primeras horas después del consumo de suplemento, en cambio el maíz hace una entrega de forma más lenta en el transcurso del tiempo.

Satter y Slyter (1974), reportaron un valor de $5 \text{ mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ como la concentración de NH_3 ruminal en donde se produce el máximo crecimiento microbiano, esta concentración se alcanza cuando la dieta contiene aproximadamente un 13% de proteína bruta. No obstante, los autores señalan que entre $5\text{-}30 \text{ mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ no se inhibe de ninguna forma el crecimiento bacterial. Según lo descrito anteriormente, los valores promedio de NH_3 ruminal obtenidos en el presente ensayo, que fluctúan entre $13,9$ y $17,9 \text{ mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ se encuentran dentro del rango normal señalado en la literatura.

No se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre las concentraciones de NH_3 ruminal matinales y de la tarde. Esto concuerda con lo señalado por Reis y Combs (2000), quienes tampoco observaron diferencias significativas durante las horas del día en cada tratamiento. Por otro lado, Agle *et al.*, 2010, si obtiene diferencias significativas en el

tiempo de muestreo (9 veces durante el día) por tratamiento, reportando la menor concentración de NH_3 ruminal en las primeras cuatro horas post alimentación.

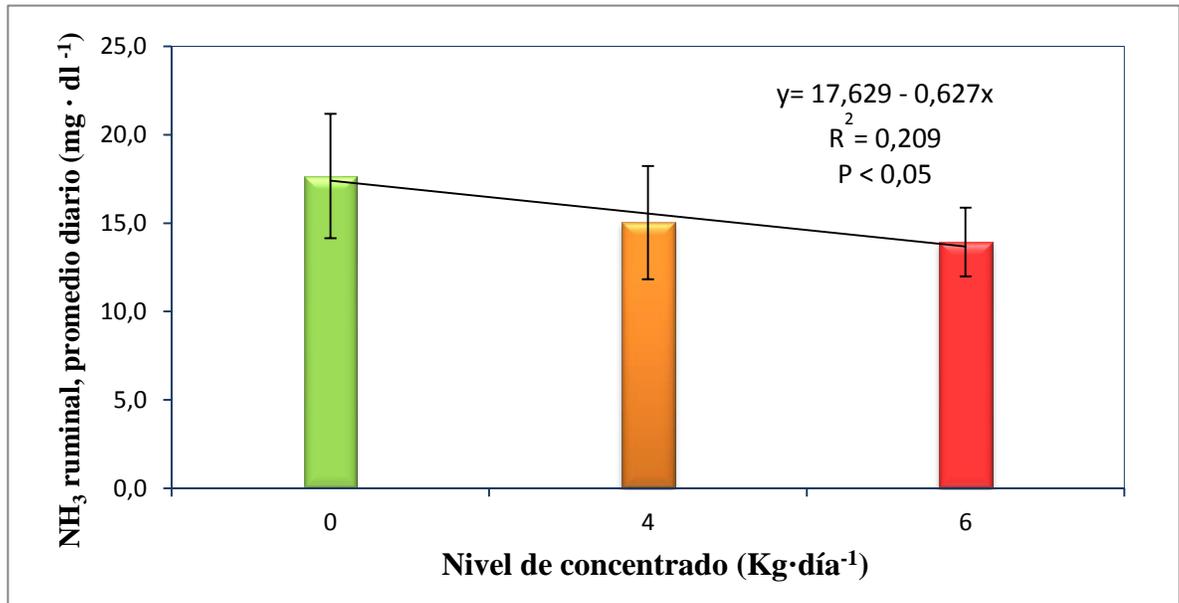


Figura 5. NH_3 ruminal según nivel de concentrado. Barras de error representan el Promedio \pm D.E.

Al realizar un análisis de regresión de NH_3 ruminal en función del nivel de concentrado, se obtiene que el modelo fue significativo ($P < 0,05$) y explicó en un 20,9 % la variación de NH_3 ruminal. La pendiente de la concentración de NH_3 ruminal fue diferente de cero e indica una disminución promedio de amoníaco ruminal de $0,627 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ por cada Kg de aumento en la suplementación con concentrado (Figura 5). Lo anterior coincide con los resultados obtenidos en investigaciones anteriores, por ejemplo, Reis and Combs (2000), en un ensayo con vacas de alta producción pastoreando praderas de gramíneas-leguminosas, reporta que existe una disminución lineal del NH_3 ruminal en respuesta al nivel de suplementación energética. Los autores obtuvieron valores de 22,4; 17,7 y 13,8 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ NH_3 ruminal para los niveles de 0; 5 y 10 Kg diarios de maíz grano respectivamente. Los valores obtenidos por los autores para el tratamiento de 0 Kg y 5 Kg, son superiores a los reportados en el presente ensayo, en cambio para el tratamiento que recibió un mayor nivel de suplementación (10 Kg) el valor obtenido es similar a lo reportado en este ensayo para el grupo que recibió 6 Kg de concentrado diario.

Agle *et al.*, 2010, estudiaron el efecto del nivel de concentrado en la dieta sobre la fermentación ruminal, digestibilidad y pérdidas de nitrógeno en vacas lactantes de alta producción. Las dos dietas utilizadas contenían en base a materia seca un 52% de concentrado, el nivel bajo y 73%, el nivel alto. El contenido de proteína cruda para ambas dietas fue de 16,5 %. Este estudio reportó una disminución en la concentración de NH_3 ruminal en el grupo con alto nivel de suplementación, con un valor de $11,05 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ en

cambio el grupo con nivel de suplementación baja presento un valor promedio mayor de 12,58 mg·dl⁻¹. Estos valores son inferiores a los reportados en el presente ensayo para los grupos suplementados de 15,0 y 13,9 mg·dl⁻¹.

En comparación con el tratamiento que no recibió suplementación energética, el tratamiento de 4 Kg de concentrado diario, disminuyo en un 15,25% el amoniaco ruminal y el tratamiento de 6 Kg diarios provoco una disminución del 21,46%.

Gozho y Mutsvangwa (2008), estudiaron el efecto de diferentes fuentes de carbohidratos sobre parámetros ruminales, suministrando una TMR (ración total mezclada) compuesta de 50% de forraje y 50% concentrado, compuesto por maíz, avena, entre otros. Los autores reportaron valores promedio de NH₃ ruminal de 16 mg·dl⁻¹ en grupos suplementados con maíz y de 14,5 mg·dl⁻¹ con grano de avena, estos valores son similares a los obtenidos en este estudio para los animales suplementados.

Si bien la mayoría de los experimentos demuestran un marcado efecto de la inclusión de concentrado, disminuyendo el amoniaco ruminal, hay algunos autores que reportan un efecto mínimo. Por ejemplo, Yang *et al.*, (2001), suministrando TMR con 18,1% de proteína cruda a vacas lecheras, reporta que no hay efecto en la concentración de NH₃ ruminal al aumentar el porcentaje de concentrado en la ración. Los valores de NH₃ ruminal obtenidos son de 5,7 mg·dl⁻¹ para el tratamiento con bajo forraje y alto concentrado (50% cebada roleada) y un valor de 5,8 mg·dl⁻¹ para el tratamiento de alto forraje y bajo concentrado (27,6% de cebada rolada).

5.7.2 pH ruminal.

El pH ruminal no evidenció diferencias significativas entre los tratamientos ($P > 0,05$). Se observa en el Cuadro 7 que los tratamientos con suplementación energética de 4 y 6 Kg, muestran una tendencia a la disminución del pH ruminal. Esto se explica por el incremento en la cantidad de carbohidratos de rápida fermentación en la dieta, ya que su forma física provoca una disminución en la rumia, disminuyendo la producción de saliva, y su forma química permite una rápida fermentación y acumulación de ácidos grasos volátiles, la cual disminuye el pH ruminal. Al contrario, el tratamiento que no recibió suplementación energética, presentó un mayor valor de pH ruminal, esto se explicaría por el alto contenido de carbohidratos estructurales en la pradera, el cual favorece la rumia y producción de saliva, la que actúa como tampón a nivel ruminal. Por otro lado, los carbohidratos estructurales del forraje tienen una fermentación más lenta a nivel ruminal, por ende liberan los ácidos grasos volátiles en forma paulatina, evitando bajas bruscas en el pH ruminal (Van Lier y Regueiro, 2008). Sin embargo, el efecto sobre el pH ruminal en animales mantenidos en pastoreo, es a menudo inconsistente y se ha reportado que éste bajo condiciones pastoriles, puede no variar en respuesta al incremento de cantidades de concentrado en la dieta (Bargo *et al.*, 2002 a y b).

Reis y Combs (2000), en un ensayo en vacas de alta producción que consumían una pradera de gramíneas-leguminosas, suministrando 0; 5 y 10 Kg diarios de concentrado,

compuesto en un 90 % por grano de maíz, reporta valores promedio de 6,63 en vacas no suplementadas, siendo este valor similar a lo obtenido en el presente ensayo, y valores de 6,72 y 6,69 para los tratamientos de 5 y 10 Kg respectivamente, valores un tanto superiores a los encontrados en este estudio para los grupos suplementados.

Valores similares a los reportados en este ensayo son lo que señala Bargo *et al.*, (2002c), en un estudio con vacas que pastorean con dos disponibilidades de pradera: alta y baja, y con la incorporación de un suplemento energético compuesto en un 62% por grano de maíz, reportando un valor promedio de pH ruminal para vacas no suplementadas, pero con alta disponibilidad de pradera de 6,4 y de 6,29 para vacas suplementadas con 1 Kg de concentrado diario/ 4 Kg de leche producido.

Gozho y Mutsvangwa (2008), estudiaron el efecto de diferentes fuentes de carbohidratos sobre parámetros ruminales, suministrando una TMR (ración total mezclada) compuesta de 50% de forraje y 50% concentrado, compuesto por maíz, avena y entre otros. Los autores reportaron valores promedio de pH ruminal de 6,18 en grupos suplementados con maíz y de 6,2 con grano de avena, estos valores son similares a los obtenidos en este estudio para los animales suplementados.

5.8 Parámetros sanguíneos.

El efecto del nivel de suplementación energética sobre los parámetros sanguíneos, NH_3 plasmático y urea plasmática, se presenta en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Efecto del nivel de concentrado sobre parámetros sanguíneos. Valores corresponden al promedio \pm desviación estándar.

Parámetros	Tratamientos		
	T0	T2	T3
NH_3 Plasmático ($\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$)	0,497 \pm 0,239 a	0,416 \pm 0,187 b	0,391 \pm 0,113 b
Urea Plasmática ($\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$)	28,3 \pm 8,8 a	26,2 \pm 8,5 b	21,8 \pm 6,2 c

Letras distintas en la misma fila señalan diferencias significativas ($P < 0,05$), según prueba de Duncan.

5.8.1 NH_3 Plasmático.

La concentración de NH_3 plasmático se afectó significativamente ($P < 0,05$) por efecto de los tratamientos. Los tratamientos que recibieron suplementación de 4 y 6 Kg de concentrado presentaron los valores promedio más bajos de NH_3 plasmático, siendo el menor valor el obtenido para el tratamiento de 6 Kg de concentrado (Cuadro 8). Esta disminución en la concentración de amoníaco plasmático en los tratamientos suplementados concuerda con las disminuciones observadas para amoníaco ruminal y urea plasmática (Figura 6). A pesar de que el amoníaco plasmático puede tener diferentes orígenes, esta disminución se explicaría en gran parte por el aporte de energía y cadenas carbonadas del concentrado al sistema ruminal, sincronizando este aporte con la generación

de NH_3 derivado de la degradación de las proteínas de la pradera, el que provocó una mayor utilización del amoníaco por parte de las bacterias ruminales. Por ende, al disminuir el amoníaco ruminal, disminuirá también la cantidad de este que se difunde por la pared ruminal hacia el torrente sanguíneo.

Al realizar un análisis de regresión de NH_3 plasmático en función del nivel de concentrado, se obtiene que el modelo fue significativo ($P < 0,05$) y explicó en un 4,9 % la variación de NH_3 plasmático (Figura 6). La pendiente de la concentración de NH_3 plasmático fue diferente de cero e indica una disminución promedio de amoníaco plasmático de $0,0181 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ por cada Kg de aumento en la suplementación con concentrado. En comparación con el tratamiento que no recibió suplementación energética, el tratamiento de 4 Kg de concentrado diario, disminuyó en un 16,3 % el amoníaco plasmático y el tratamiento de 6 Kg diarios provocó una disminución del 21,3%. Carreño (2010), en un ensayo en vacas a pastoreo primaveral suministrando 4 Kg diarios de diferentes mezclas de carbohidratos, reportó una disminución del 7,5% en el NH_3 plasmático, utilizando una mezcla compuesta de 50% avena machacada y 50% de maíz molido.

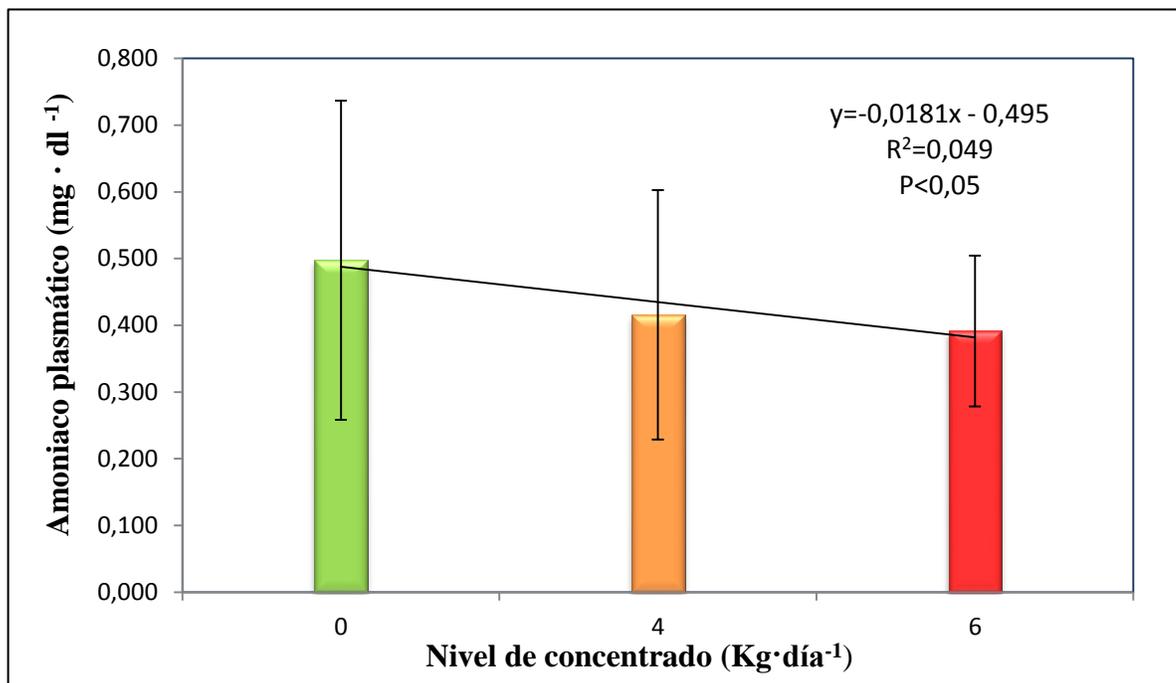


Figura 6. Valores de NH_3 plasmático según nivel de concentrado. Barras de error representan el Promedio \pm D.E

Bartley *et al.*, (1976), señala valores de referencia de amoníaco plasmático en donde no se producen efectos tóxicos en rumiantes de entre $0,14$ y $0,53 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ y valores en donde se presenta una elevada toxicidad por este compuesto desde $0,80$ a $1,04 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$. Según lo señalado anteriormente, los valores obtenidos de este metabolito en el presente ensayo están dentro del rango normal en donde no se observan efectos nocivos sobre el animal.

Valores inferiores a los reportados en el presente ensayo son los observados por Butler (1998), quien en vacas lecheras consumiendo una ración total mezclada con un 19 % de proteína cruda entrega valores promedio de amoniaco plasmático de 0,05; 0,04 y 0,009 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$, medidos en 0 horas, 4 horas y 8 horas después de la alimentación respectivamente y Galvis *et al.*, 2003, reporta un valor promedio de amoniaco plasmático de 0,13 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$, para vacas lecheras a los 100 días de lactancia.

Sinclair *et al.*, (2000), reportan valores de amoniaco plasmático para vacas lecheras consumiendo heno y suplementadas con un concentrado en base a pulpa de remolacha y harina de colza de 0,42 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ para el grupo en el que la entrega de proteína al rumen fue sincronizada con la de energía, y de 0,51 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ para el grupo en que no hubo sincronización en la entrega. Estos valores son similares a los reportados en el presente ensayo.

5.8.2 Urea plasmática.

Para la concentración de urea plasmática se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los tratamientos. El grupo que recibió el nivel mayor de suplementación (6 Kg) fue el que presentó el valor promedio más bajo de urea plasmática, seguido por el tratamiento de 4 Kg de concentrado energético (Cuadro 8). La disminución en la concentración de urea plasmática en los tratamientos suplementados se debe a la menor cantidad o concentración de NH_3 que se difundió vía pared ruminal hacia el hígado, debido a la mayor captación de ese amoníaco por las bacterias ruminales. Así, una adecuada suplementación con concentrados, que aporte energía, mejora el aprovechamiento del amonio ruminal, disminuyendo la concentración plasmática de urea. En el tratamiento control el alto nivel de urea plasmática se explica ya que la pradera que consumieron los animales presentó un alto contenido de proteína cruda durante la duración del ensayo y un bajo contenido de carbohidratos no estructurales, por lo que se habría sobrepasado la capacidad de utilización del amoniaco por parte de los microorganismos ruminales, siendo este absorbido y transformado a urea en el hígado, aumentando su concentración plasmática.

Oyarzun (1997), realizó un análisis de 562 resultados de perfiles metabólicos obtenidos del muestreo de rebaños lecheros del sur de Chile entre los años 1986 y 1996, reportando un valor promedio de urea plasmática de 29,4 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ y señala como límites de referencia para este metabolito entre 12,6 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ y 46,8 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$. Por lo tanto, los valores de urea plasmática obtenidos en el presente estudio están dentro del rango normal señalado para vacas lecheras del sur de Chile.

En comparación con el tratamiento que no recibió suplementación energética, el tratamiento de 4 Kg de concentrado diario, disminuyó en un 7,4 % la urea plasmática y el tratamiento de 6 Kg diarios provocó una disminución de 22,9%. Carreño (2010), en un ensayo en vacas a pastoreo primaveral suministrando 4 Kg diarios de diferentes mezclas de carbohidratos, no detecta disminución significativa en la concentración de urea plasmática, utilizando una mezcla compuesta de 50% avena machacada y 50% de maíz molido.

Al realizar un análisis de regresión de urea plasmática en función del nivel de concentrado, se obtiene que el modelo fue significativo ($P < 0,05$) y explicó en un 9,8 % la variación de urea plasmática. La pendiente de la concentración de urea plasmática fue diferente de cero e indica una disminución promedio de urea plasmática de $3,276 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ por cada Kg de aumento en la suplementación con concentrado (Figura 7). Algo similar a esta disminución fue lo reportado por Pulido *et al.*, (2009) en un estudio en donde se evaluó el efecto de niveles crecientes de suplementación con concentrado sobre la respuesta productiva de vacas lecheras con una alta asignación diaria de pradera primaveral, con un 22,4 % de proteína cruda, reportaron valores de urea plasmática un tanto superiores a los obtenidos en el presente estudio. Para los tratamientos sin suplementación, suplementación de 3 Kg, suplementación de 6 Kg y suplementación de 9 Kg, reportan valores promedio de $33,66 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$; $31,62 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$; $33,12 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ y $32,1 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ respectivamente.

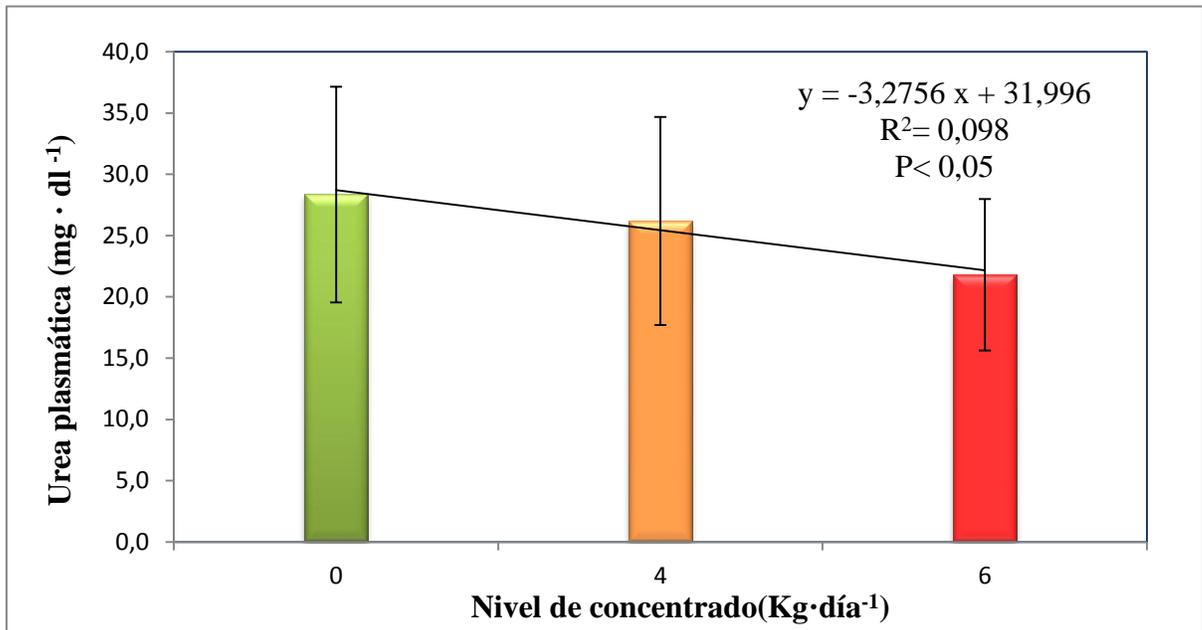


Figura 7. Valores de urea plasmática según nivel de concentrado. Barras de error representan el Promedio \pm D.E

En una pradera primaveral de gramíneas con un 25% de proteína cruda, Noro *et al.*, (2006), evaluaron el efecto del tipo de concentrado sobre indicadores sanguíneos del metabolismo de energía y proteína en vacas lecheras, reportando valores promedios de urea plasmática de $49,08 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ para las vacas que solo consumieron pradera, $39,66 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ para las suplementadas con 6 Kg de concentrado amiláceo a base de cebada y de $43,56 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ para el grupo de animales suplementados con 6 Kg de concentrado fibroso a base de coqueta de remolacha. Los valores reportados en el presente ensayo son inferiores a los obtenidos por Noro *et al.*, (2006).

Valores inferiores a los obtenidos en el presente ensayo son los reportados por Delahoy *et al.*, (2003), quien en su estudio realizado en vacas pastoreando una pradera con 24% de proteína cruda y suplementando 7,2 Kg diarios de concentrado de maíz molido y de maíz rolado al vapor, reporta valores de 13,7 mg·dl⁻¹ y de 12,5 mg·dl⁻¹, respectivamente. Estos valores corresponden a muestras recolectadas luego de la ordeña de la mañana y antes del consumo de concentrado.

Hristov *et al.*, (2005), en vacas confinadas consumiendo una dieta en base a alfalfa con un 22,1% de proteína bruta y suplementadas de manera intraruminal con diferentes tipos de carbohidratos como fibra de avena, dextrosa de maíz, almidón de maíz y una mezcla de ellos, reporta valores de urea plasmática de 27,0; 21,2 ; 21,8 y 23,8 mg·dl⁻¹, respectivamente. Los valores obtenidos en el ensayo anterior son similares a los reportados en el presente ensayo para el grupo control y también para los grupos que recibieron suplementación energética.

5.9 Producción y composición de la leche.

Cuadro 9. Producción y composición de leche de vacas no Fistuladas. Valores corresponden al promedio \pm desviación estándar.

Parámetros	Tratamientos		
	T0	T2	T3
Producción de Leche (Kg·día ⁻¹)	27,8 \pm 3,8 a	28,0 \pm 3,4 a	29,1 \pm 3,8 a
Contenido graso, %	4,6 \pm 0,4 a	4,4 \pm 0,6 a	3,8 \pm 0,5 a
Contenido proteína, %	3,6 \pm 0,2 a	3,6 \pm 0,2 a	3,4 \pm 0,4 a
VEKg ¹ (MJ·Kg ⁻¹)	3,4 \pm 0,2 a	3,4 \pm 0,3 a	3,1 \pm 0,2 a
VEpt ² (MJ)	94,9 \pm 13,6 a	94,1 \pm 12,5 a	90,6 \pm 12,3 a
PLCE ³ (Kg)	30,3 \pm 4,3 a	30,0 \pm 3,9 a	28,9 \pm 3,9 a
PPROT ⁴ (Kg)	990,6 \pm 135,3 a	997,1 \pm 112,2 a	1003,6 \pm 128,8 a
PGRAS ⁵ (Kg)	1272,8 \pm 190,7 a	1241,8 \pm 212,8 a	1117,8 \pm 164,1 a
Urea láctea (mg ·dl ⁻¹)	46,8 \pm 5,5 a	42,3 \pm 8,4 b	36,3 \pm 6,3 c

Letras distintas en la misma fila señalan diferencias significativas (P < 0,05), según prueba de Duncan.

¹ Valor energético de un Kg de leche.

² Valor energético de la producción total.

³ Producción de leche corregida por energía.

⁴ Producción de proteína.

⁵ Producción de grasa.

5.9.1 Producción de leche.

En el Cuadro 9, se observa que los valores promedio de producción de leche no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos de suplementación con concentrado energético (P>0,05) (Cuadro 9). Bargo *et al.*, (2003), indican que vacas

lecheras de alta producción son definidas como aquellas que producen más de 25 Kg/d de leche en lactancia temprana y alrededor de 20 Kg·d⁻¹ en lactancia tardía, por lo tanto las vacas utilizadas en este experimento se encuentran dentro de este rango. La tasa de sustitución, o reducción en el consumo de MS de pastura por kilogramo de suplemento, es el principal factor que explica la variación observada en respuesta en producción de leche a la suplementación (Bargo *et al.*, 2003), pero también otros factores influyen como la disponibilidad y calidad de la pradera y suplemento y la partición de la energía adicional consumida entre producción de leche y ganancia de peso corporal (Klein, 2001; Bargo *et al.*, 2003; Pulido *et al.*, 2009).

Por lo tanto la nula respuesta en producción láctea con la inclusión de mayores niveles de concentrado en este ensayo, se explicaría en parte, por la alta disponibilidad y buena calidad que presento la pradera durante el ensayo, lo cual provocó un aumento en la tasa de sustitución con el aumento del nivel de suplementación energética, dando como resultado un incremento significativo en el consumo de materia seca total en los grupos suplementados en relación al control, pero que no fue suficiente para aumentar la producción de leche (Cuadro 5). Por otro lado, la energía adicional consumida con la inclusión del concentrado puede haber sido destinada a ganancia de peso corporal más que a producción de leche, ya que en los tratamientos que recibieron suplementación se observa una tendencia a un mayor cambio de peso vivo (Cuadro 6).

Cabe señalar que la respuesta a la suplementación con concentrados es muy variable, reportándose aumentos marcados en producción de leche o por el contrario leves o inexistentes, como en el caso del presente estudio. Álvarez *et al.*, (2007), en un ensayo con vacas Holando Argentino pastoreando una pradera de alfalfa, festuca y cebadilla criolla, estudiaron el efecto de la suplementación energética con distintos niveles de producción de leche y asignación de pastura. Los autores no reportaron diferencias significativas en la respuesta de producción de leche con el aumento del nivel de concentrado energético de 3,5 a 7 Kg MS ·vaca día⁻¹. Este resultado es similar al obtenido en el presente ensayo en donde no se observaron diferencias en la producción de leche en respuesta al aumento del nivel de suplementación energética. Pulido *et al.*, 2009, en vacas de similares condiciones a las del presente ensayo y pastoreando una pradera compuesta en un 70,4% de ballica perenne, obtiene producciones lácteas de 28,1; 30,8; 31,2 y 28,8 Kg·día⁻¹ para los tratamientos sin concentrado, 3; 6 y 9 Kg de concentrado, respectivamente, no observando diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, al igual que lo ocurrido en el presente ensayo.

A diferencia de los resultados obtenidos en el presente ensayo y como se señaló anteriormente, diversos autores si reportan aumentos significativos en la producción de leche en respuesta a la suplementación con concentrados, como por ejemplo, Agle *et al.*, 2010, quienes suministraron dos dietas a vacas Holstein estabuladas, las dietas utilizadas contenían en base a materia seca un 52% de concentrado, nivel bajo y 73%, nivel alto. El contenido de proteína cruda para ambas dietas fue de 16,5 %. Al analizar la producción de leche, los autores reportan un aumento significativo en la producción diaria del grupo que consumió alto nivel de concentrado; 36,0 Kg·día⁻¹; en comparación con 33,2 Kg·día⁻¹,

producidos por el grupo suplementado con un nivel bajo. En vacas lecheras consumiendo una pradera primaveral con 21,6% de proteína cruda, en el Sur de Chile, Aguilera (2003), señala que los grupos que fueron suplementados con 6 Kg diarios de coseta de remolacha y 6 Kg diarios de cebada, presentaron una producción de leche significativamente mayor ($29,15 \text{ Kg}\cdot\text{día}^{-1}$) que el grupo que solo consumió pradera ($24,2 \text{ Kg}\cdot\text{día}^{-1}$).

5.9.2 Contenido grasa.

En el Cuadro 9, se observa que el aumento del nivel de concentrado energético en la ración no afectó significativamente el contenido de grasa (%) en la leche ($P>0,05$). A pesar de este resultado, se observa una tendencia a la disminución en el contenido de grasa con el aumento del nivel de suplementación energética, desde un valor promedio de 4,6 % para el tratamiento control hasta un 3,8% obtenido con el tratamiento de suplementación con 6 Kg diarios de concentrado. Al realizar un análisis de regresión lineal del contenido de grasa en función del nivel de concentrado, se obtiene que el modelo fue significativo ($P<0,05$) y explicó en un 21,9 % la variación del contenido de grasa en la leche. La pendiente del contenido de grasa, fue diferente de cero e indica una disminución promedio del contenido de grasa de 0,1104 unidades porcentuales por cada Kg de aumento en la suplementación con concentrado energético (Figura 8).

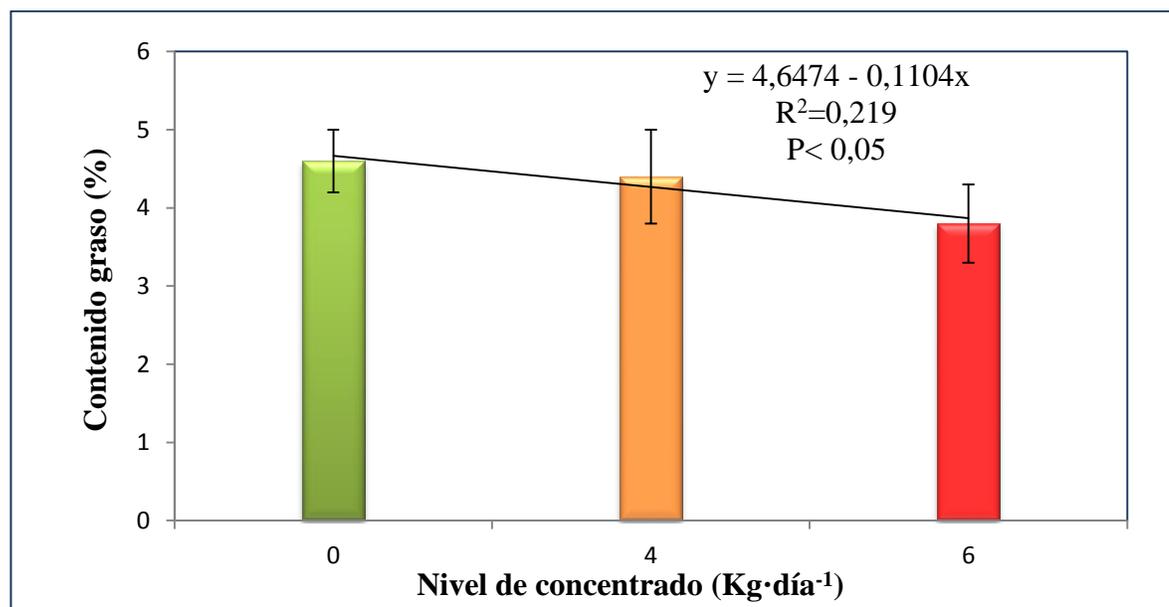


Figura 8. Contenido de grasa en la leche según nivel de concentrado. Barras de error representan el Promedio \pm D.E

Esta tendencia a la disminución en el contenido de grasa en la leche se explicaría por el aumento del consumo de concentrado energético en los grupos suplementados, ya que el consumo de alimentos con alto contenido de almidón, provoca efectos en la fermentación a nivel ruminal, los que posteriormente afectan los parámetros de composición y producción

de leche. El pH ruminal es el principal parámetro que determina la producción de ácidos grasos volátiles en el rumen, ya que afecta la actividad enzimática y el crecimiento de la población microbiana. Valores de pH entre 5,5 y 7, como los determinados en este estudio para los tratamientos 2 y 3 (Cuadro 7), disminuyen la producción de acetato en el rumen por parte de la flora celulítica, en relación a la concentración de propionato, por ende disminuye el contenido graso de la leche ya que el acetato es su principal precursor. En relación a la mezcla de carbohidratos utilizada en este ensayo, cabe destacar, que el maíz posee mayor contenido de almidón que la avena, la cual tiene un mayor contenido de fibra. Sayers *et al.*, (2003), señalan que la concentración de grasa en leche está íntimamente ligada con la relación de ácidos grasos volátiles producidos en el rumen, debido a que la fibra estimula la producción de ácido acético, el cual es utilizado por la glándula mamaria para la formación de ácidos grasos encontrados en la grasa de la leche.

Al comparar el contenido graso de la leche del tratamiento control con los tratamientos suplementados, se observa que el tratamiento que recibió suplementación de 4 Kg de concentrado diario, produjo un 4,3% menos de grasa y el tratamiento que recibió suplementación de 6 Kg diarios produjo un 17,3% menos que el tratamiento control. Los porcentajes anteriores son similares a los reportados por Pulido *et al.*, (2009), quienes reportan una disminución del 13,9 % para las vacas suplementadas con 3 Kg de concentrado diarios y de 17,3 % para vacas suplementadas con 9 Kg de concentrado al día, en comparación con el grupo que solo realizó consumo de pradera primaveral, disminuciones similares a lo reportado en el presente ensayo para las vacas consumiendo mayores niveles de concentrado. Pero por otro lado, Bargo *et al.*, (2003), señala que las vacas a pastoreo suplementadas con concentrado reducen en promedio tan solo en un 6% el contenido de grasa en la leche en comparación con vacas consumiendo pradera. El mismo autor reporta que el contenido de grasa en leche disminuye entre 0,22 y 0,24 unidades porcentuales al suplementar las vacas en pastoreo con concentrado. En este ensayo las vacas que recibieron concentrado de 4 y 6 Kg diarios, produjeron en promedio 0,2 y 0,8 unidades porcentuales menos de grasa que las vacas que solo pastorearon.

Si bien es reconocido que al aumentar el nivel de concentrado energético en la dieta de vacas se reduce el contenido de grasa en la leche, algunos autores han reportado que no hay una disminución significativa, este es el caso de Meeske *et al.*, 2006, quienes en un ensayo en vacas de raza Jersey, pastoreando una pradera de alta calidad, compuesta por trébol, avena y alfalfa, y suministrando niveles crecientes de concentrado energético (0; 2,4; 4,8 y 7,2 Kg), compuesto en su mayor parte de maíz roado y trigo aplastado, reportaron que no existió una disminución significativa en términos de contenido de grasa al aumentar el nivel de concentrado en la dieta, señalando valores de 4,35; 4,46; 4,46; 4,57 %, respectivamente.

Según lo señalado por Anrique (2011), el promedio de contenido de grasa de la leche en vacas lecheras del Sur de Chile es de 3,81%, por ende, los valores de contenido graso reportados en este ensayo para los tratamientos sin suplementación y con suplementación energética de 4 Kg diarios, estarían por sobre el promedio señalado en la literatura. El mismo autor indica un promedio de contenido graso para vacas en Nueva Zelanda de

4,96%, por lo que los valores reportados en las vacas en el presente estudio se acercarán más a lo que ocurre en Nueva Zelanda en relación a la producción de sólidos lácteos.

5.9.3 Contenido proteína.

Se observa en el Cuadro 9, que no existió diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos para el contenido de proteína en la leche ($P < 0,05$). Este resultado difiere con lo señalado en la literatura, ya que al aumentar el nivel de consumo de concentrado energético se produce un aumento en el contenido proteico de la leche, como lo reportan diversos autores, quienes señalan la existencia de un incremento lineal en el contenido proteico cuando se aumenta el nivel de concentrado en la dieta (Delaby *et al.*, 2001; Reis y Combs, 2000). Este aumento significativo en el contenido proteico no se observó en el presente ensayo, pero se explicaría ya que al aumentar la disponibilidad de energía a nivel ruminal se favorece la producción de proteína microbiana, lo que conlleva a un aumento en la disponibilidad de aminoácidos en el intestino delgado, por lo tanto, se incrementan los niveles de aminoácidos circulantes disponibles para la síntesis de proteínas en la leche (Sayers *et al.*, 2003). Por otro lado, los azúcares presentes en el concentrado afectan la fermentación a nivel ruminal, ya que aumentan la concentración relativa de ácido propiónico, que está íntimamente relacionado con la síntesis de proteínas en la glándula mamaria. A pesar de lo señalado anteriormente, el contenido proteico en la leche es el parámetro que tiene menor variación en respuesta al cambio de alimentación, por ejemplo, Bargo *et al.* (2003), señala que la suplementación con concentrados aumenta el porcentaje de proteína en la leche en promedio 0,13 unidades porcentuales, con un rango de 0,01 a 0,25 unidades porcentuales.

Resultados similares a los obtenidos en el presente ensayo son los reportados por McEvoy *et al.*, (2008), quien en un ensayo en vacas Holstein en lactancia media, pastoreando una pradera de Ballica perenne con alta disponibilidad, señala valores de contenido proteico en leche de 3,31; 3,36 y 3,37 % para los niveles de suplementación con concentrado compuesto en gran parte de pulpa de cítricos y cebada, de 0, 3 y 6 Kg diarios, respectivamente. El autor no encuentra diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

A diferencia de lo señalado anteriormente y a los resultados obtenidos en el presente ensayo, Aguilera (2003), en vacas del sur de Chile pastoreando una pradera de primavera, al analizar el porcentaje de proteína en la leche, reporta que existió diferencia significativa entre el tratamiento que solo consumió pradera con respecto a los tratamientos suplementados con 6 Kg diarios de concentrado farináceo o fibroso, los cuales produjeron un mayor porcentaje de proteína en la leche. Las vacas que recibieron concentrado, produjeron 0,12 unidades porcentuales o un 4% más de proteína por litro que las vacas que no recibieron concentrado.

Anrique (2011), indica que el promedio de contenido proteico en vacas lecheras del Sur de Chile es de 3,37%, por ende, los valores de contenido de proteína láctea reportados en este ensayo para los tratamientos sin suplementación y con suplementación energética de 4 Kg

diarios, estarían 0,23 unidades porcentuales por sobre el promedio señalado en la literatura. El mismo autor indica un promedio de contenido proteico para vacas en Nueva Zelanda de 3,73%, por lo que los valores reportados en las vacas en el presente estudio se acercarán más a lo que observado en Nueva Zelanda.

5.9.4 Concentración de urea láctea.

En el Cuadro 9, se observa que los tratamientos de nivel de suplementación energética afectaron significativamente al contenido de urea en la leche ($P < 0,05$). El tratamiento que presentó el mayor valor de urea láctea fue el que no recibió suplementación energética y el tratamiento con suplementación de 6 Kg diarios presentó el menor contenido de urea en leche. Esta significativa disminución concuerda con lo descrito y señalado en la literatura (Reis y Combs, 2000; Broderick, 2003) y se explicaría por la disminución en la relación proteína cruda: energía metabolizable de la dieta al aumentar el nivel de suplementación energética, ya que la urea láctea es altamente dependiente de la relación existente entre la proteína y energía ingeridos por el animal, con un coeficiente de regresión de 0,95 (Nousianien *et al.*, 2004). Por ende, al aumentar el nivel de energía en la dieta, en los grupos suplementados, se provoca una disminución en el amoníaco ruminal, debido a que existe una mayor utilización de este compuesto para la síntesis de proteína microbiana y por consiguiente disminuye también la urea plasmática, la cual está altamente relacionada con la concentración de urea en leche, $R^2 = 0,84$ (Broderick y Clayton, 1997), ya que la urea se equilibra rápidamente entre los fluidos corporales e ingresa a la glándula mamaria por difusión.

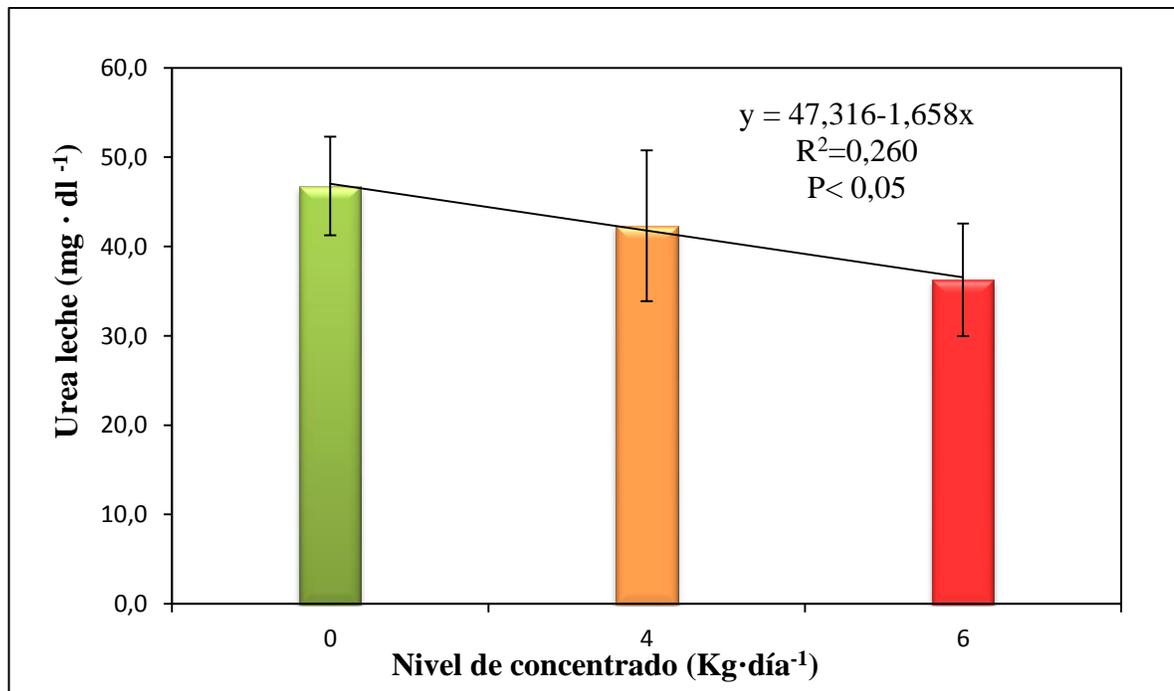


Figura 9. Concentración de urea leche según nivel de Concentrado. Barras de error representan el Promedio \pm D.E

Al realizar un análisis de regresión de la concentración de urea láctea en función del nivel de concentrado, se obtiene que el modelo fue significativo ($P < 0,05$) y explicó en un 26,0% la variación de urea en leche. La pendiente de la concentración de urea láctea fue diferente de cero e indica una disminución promedio de $1,658 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ por cada Kg de aumento en la suplementación con concentrado (Figura 9). En comparación con el tratamiento que no recibió suplementación energética, el tratamiento de 4 Kg de concentrado diario, disminuyó en un 9,62 % la urea láctea y el tratamiento de 6 Kg diarios provocó una disminución del 22,43%. Esta disminución de la concentración de urea láctea coincide con la disminución de amoníaco plasmático que se produjo en los animales fistulados. Resultados similares son los reportados por Reis y Combs (2000), quienes obtienen una disminución lineal significativa al aumentar el nivel de concentrado energético en la dieta, utilizando tratamientos de 0, 5 y 10 Kg, obteniendo valores de 43,38; 36,24; 28,74 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$, similares a los valores encontrados en el presente estudio, y una disminución de 16,4% con la inclusión de 5 Kg de concentrado, un tanto menor a la obtenida en este ensayo para un nivel similar de suplementación.

Del mismo modo, Bargo *et al.*, (2002c), encontraron que la suplementación con un concentrado compuesto en un 62% de grano de maíz en vacas a pastoreo con alta disponibilidad de pradera, reduce significativamente la concentración de urea en la leche, de $30,47 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ en vacas solo a pastoreo, a $23,82 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ en vacas que recibieron 1 Kg concentrado diario/ Kg de leche producido, debido a la reducción en la producción y concentración de amoníaco ruminal. Pardo *et al.*, (2008), reportan que la suplementación con carbohidratos no estructurales de rápida degradación ruminal como la harina de arroz o azúcar de caña, en vacas doble propósito, reduce la concentración de urea láctea como consecuencia de una disminución en el amoníaco ruminal, el cual es usado con mayor eficacia para la síntesis de proteína microbial.

A diferencia de lo ocurrido en el presente ensayo, algunos autores no han reportado una disminución significativa de la concentración de urea láctea en respuesta a la suplementación con concentrado. Este es el caso de Carreño (2010), quien no obtuvo una disminución importante en la urea en leche al suplementar vacas lecheras a pastoreo primaveral con 4 Kg diarios de concentrado, compuesto por maíz molido y avena machacada en igual proporción, reportando un valor de $41,2 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ para vacas solo a pastoreo y de $39,7 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$, para el grupo suplementado, estos valores son levemente inferiores a los reportados en la presente investigación. Pulido *et al.*, (2009), tampoco señala la existencia de una disminución en la urea láctea con el aumento del nivel de concentrado energético y reporta valores de 32,2; 32,2; 31,0; 29,9 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ para 0, 3, 6 y 9 Kg respectivamente, valores que se encuentran por debajo de los obtenidos en el presente ensayo, lo cual podría atribuirse a menores degradabilidades de la proteína de la pradera.

Se aprecia en el Cuadro 9, que los valores promedio de urea láctea para los tratamientos que recibieron suplementación energética, se encuentran en el rango superior de los valores de referencia para la especie, que según Wittwer *et al.*, (1993) deben fluctuar entre 15 y 44 $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1}$, en cambio el valor promedio obtenido en el tratamiento control está por sobre el límite superior del rango. Los altos valores de urea en leche encontrados en este ensayo se

explican ya que este estudio fue realizado durante la época primaveral, estación del año en la cual se reportan los mayores niveles de urea en leche, debido al alto contenido de proteína degradable en el rumen y la baja relación proteína cruda: energía metabolizable que presentan las praderas primaverales. El mismo autor, señala que el valor promedio de urea láctea en vacas a pastoreo en la zona Sur de Chile es de $36,7 \pm 12,2 \text{ mg}\cdot\text{dl}^{-1}$, por lo que los valores reportados en este ensayo estarían dentro del promedio nacional.

5.10 Correlaciones entre amoniaco ruminal y parámetros sanguíneos.

Se observan en el Cuadro 10, las correlaciones entre el amoniaco ruminal y parámetros sanguíneos en las vacas fistuladas utilizadas en este ensayo.

Cuadro 10. Correlaciones de Pearson entre NH_3 ruminal y parámetros sanguíneos en vacas fistuladas.

	Parámetros sanguíneos	
	NH_3	Urea
NH_3 Ruminal	0,470 *	0,856 **

Valores corresponden a coeficiente de correlación de Pearson.

* : Representa correlación significativa ($p < 0,05$).

** : Representa correlación altamente significativa ($p \leq 0,01$).

La correlación lineal para los parámetros NH_3 ruminal y NH_3 plasmático fue estadísticamente significativa y se considera como una correlación media (Cuadro 10), esto concuerda con lo señalado por Bartley et al., (1976) quienes reportan una correlación lineal positiva y muy significativa, de 0,334 para estas dos variables. Por el contrario, Carreño (2010), indica la existencia de una correlación lineal alta con un coeficiente de correlación de Pearson de 0,779; superior al reportado en este estudio. El resultado de la correlación obtenida en este ensayo no fue alta, esto se explicaría ya que el amoniaco plasmático tiene diversos orígenes, es decir, no proviene únicamente del que se genera en exceso en el rumen y no puede ser detoxificado a urea en el hígado, sino también se produce del metabolismo intermediario, metabolismo renal, bacterias del tracto digestivo y de la movilización de tejido muscular (Visek, 1984). En la mayoría de las condiciones fisiológicas el amoniaco se convierte a urea en el hígado, molécula que no presenta toxicidad, manteniendo así una baja concentración de amoniaco en la circulación sistémica (Symonds, 1981). De todas formas, si los animales se alimentan de raciones que contienen grandes cantidades de proteína altamente degradable o nitrógeno no proteico, la cantidad de

amoníaco que entra en la circulación portal puede exceder la velocidad a la que el hígado puede metabolizar, ingresando a la circulación sistémica causando alta toxicidad, lo que no ocurrió en este estudio ya que los valores de amoníaco plasmático se ubicaron dentro del rango no tóxico reportado en la literatura.

Existe una correlación lineal positiva y altamente significativa entre la variable NH_3 ruminal y urea plasmática (Cuadro 10), similar a este resultado, es lo reportado en la literatura científica, en donde en la mayoría de los experimentos se observa una alta correlación. Por ejemplo, Pardo (2008), indica la existencia de una alta asociación entre amoníaco ruminal y urea plasmática, con un coeficiente de correlación de 0,943. Promkot y Wanapat (2004), también reportan una alta correlación lineal entre estos dos parámetros, con un coeficiente de 0,984. Estos resultados demuestran y confirman, que cuando existe un exceso de amonio ruminal, este difunde por la pared del rumen e ingresa a la sangre portal para ser transportado al hígado en donde es convertido a urea, molécula que luego se difunde a la sangre, aumentando la concentración de este metabolito en la circulación sistémica del animal (Hammond, 1998).

5.11 Correlaciones entre parámetros sanguíneos y lácteos.

En el Cuadro 11 se observan las correlaciones de Pearson entre parámetros plasmáticos y lácteos, realizadas utilizando los datos de las vacas no fistuladas.

Cuadro 11. Correlaciones de Pearson en vacas no fistuladas.

	Urea Plasmática	Urea Láctea
NH_3 Plasmático	0,611 **	0,742 **
	Urea Láctea	
Urea Plasmática	0,862 **	

Valores corresponden a coeficiente de correlación de Pearson.

* : Representa correlación significativa ($p < 0,05$).

** : Representa correlación altamente significativa ($p \leq 0,01$).

La correlación existente entre amoníaco plasmático y urea plasmática, resultó ser positiva y altamente significativa (Cuadro 11), esta asociación fue menor a la señalada por Carreño (2010), quien reporta un valor de 0,80 y una alta significancia. La asociación existente entre estos parámetros se explicaría ya que el hígado no solo convierte a urea el amoníaco proveniente del rumen vía porta, sino que también transforma el amoníaco de la circulación sistémica, el cual proviene de la desaminación de aminoácidos provenientes de la digestión postruminal y de la movilización de tejido muscular (Hammond, 1998).

El amoniaco plasmático presento una correlación positiva y altamente significativa con la urea láctea (Cuadro 11). La correlación reportada en este ensayo fue superior a la que indica Carreño (2010), quien señala que existe una correlación altamente significativa con un coeficiente de correlación de Pearson de 0,61 para vacas no fistuladas. Esta correlación es alta y positiva, ya que el hígado está constantemente convirtiendo amonio plasmático a urea, con el fin de que en la circulación sistémica la concentración se debe mantener baja para evitar toxicidad, por ende la urea formada por el hígado difunde rápidamente por la sangre e ingresa a la glándula mamaria, aumentando la concentración de la urea láctea (Wittwer *et al.*, 1993).

Entre las correlaciones realizadas en el presente ensayo, la determinada entre urea plasmática y urea láctea, es la que presentó el mayor nivel de asociación, esta fue altamente significativa ($P < 0,05$) y positiva (Cuadro 11). Lo anterior coincide con lo reportado en la literatura científica. Por ejemplo Pardo *et al.*, (2008) y Promkot y Wanapat (2004), indican valores de correlacion de 0,839 y 0,949, respectivamente. Asi mismo, Broderick (1995) y Broderick *et al.*, (1997), calculan valores de 0,862 y 0,9176, y se observa que el primer valor es el mismo que el obtenido en este ensayo para la correlación entre urea en plasma y en leche. La alta asociación que existe entre estos dos parámetros se explica ya que la urea sanguínea se equilibra rápidamente a través de los fluidos corporales, siendo en parte recirculada al rumen o excretada en orina y leche. La urea ingresa a través del epitelio alveolar de la glándula mamaria y difunde a la leche (Broderick y Clayton, 1997; Wittwer *et al.*, 1993).

5.12 Regresiones lineales entre parámetros ruminales, sanguíneos y lácteos.

En la Figura 10, se observa la ecuación de regresión lineal formulada entre la concentración de urea en la leche y el NH_3 plasmático.

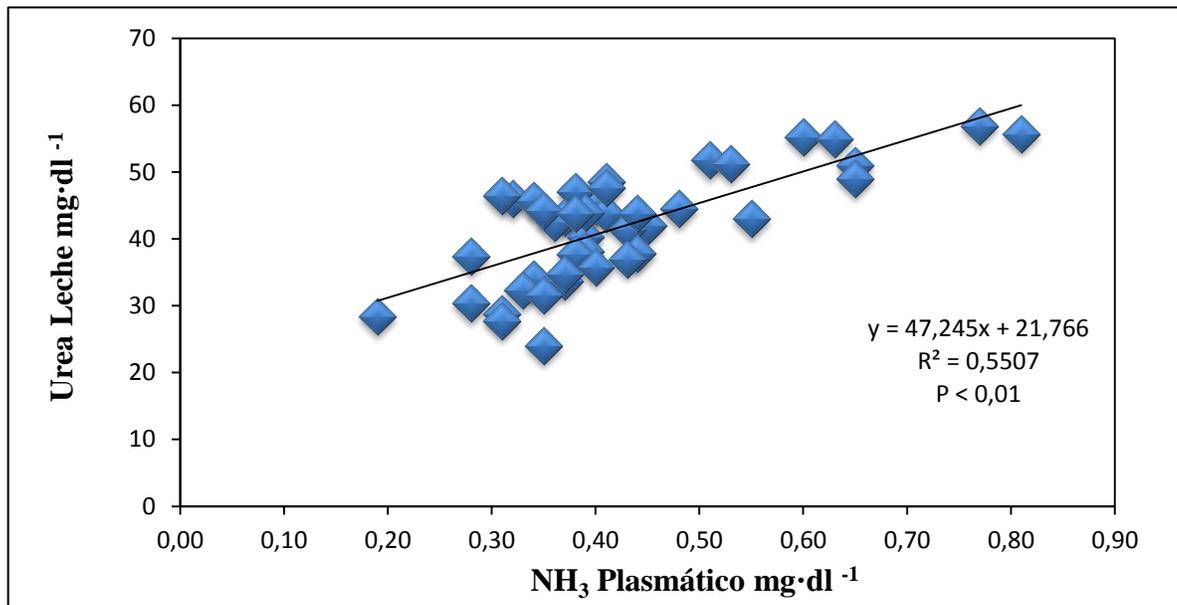


Figura 10. Ecuación de regresión lineal entre urea láctea y NH_3 plasmático.

El modelo para urea láctea fue significativo ($P < 0,01$) y explicó en un 55,07 % la variación de la urea en la leche, el 44,93% restante se explica por otros procesos. La pendiente de la concentración de urea láctea fue diferente de cero e indica un aumento promedio de urea láctea de $47,245 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ por cada unidad de incremento en la concentración amoniacal plasmático (Figura 10). Esta dependencia entre las variables se explica por el papel que juega el hígado en el proceso de detoxificación del amoníaco sanguíneo, ya que está constantemente convirtiendo amoníaco a urea, mediante el ciclo de la urea, debido a que el amoníaco es un metabolito neurotóxico en animales, por lo que su concentración en la sangre debe mantenerse baja. Cuando este ciclo se satura, el amoníaco tomaría la ruta del glutamato y la glutamina, la que por vía sanguínea va a los riñones en donde sufre un proceso de desaminación liberando amoníaco que es finalmente eliminado en la orina (Correa y Cuellar, 2004). La urea formada por el hígado a partir de amoníaco al difundir a través de los fluidos corporales puede ingresar a la glándula mamaria, aumentando la concentración de urea en la leche (Wittwer *et al.*, 1993).

En la Figura 11 se detalla la ecuación de regresión lineal que se generó entre la concentración de urea láctea y la urea plasmática.

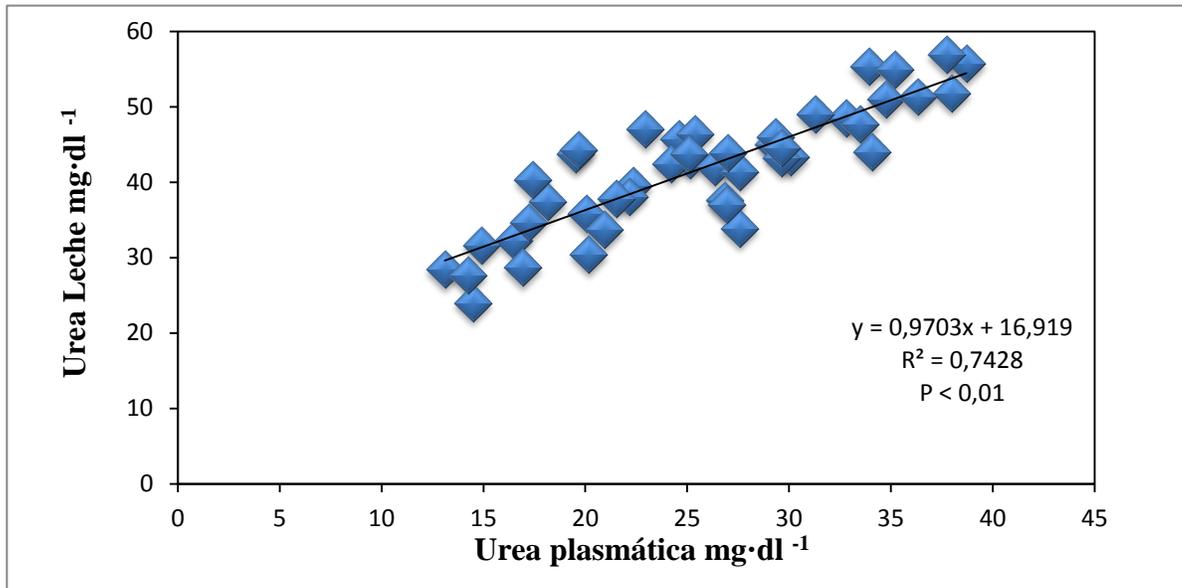


Figura 11. Ecuación de regresión lineal formulada entre urea láctea y urea plasmática.

El modelo para urea láctea fue significativo ($P < 0,01$) y explicó en un 74,28% la variación de la urea en la leche, el 25,72% restante se explica por otros procesos. La pendiente de la concentración de urea láctea fue diferente de cero e indica un aumento promedio de urea láctea de $0,9703 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ por cada unidad de incremento en la concentración de urea plasmática (Figura 11). Los resultados muestran que la concentración de urea en la leche tienen una gran dependencia de los niveles de urea en el plasma ($R^2 = 0,7428$), indicando que la concentración de urea en leche es proporcional a la que existe en la sangre, lo cual es similar a lo reportado en la literatura científica (Broderick y Clayton, 1997; Hammond, 1998; Pardo, 2008). Por ejemplo, Broderick y Clayton (1997), obtienen al realizar una regresión lineal con los datos de dos ensayos, un coeficiente de regresión de 0,686 y un aumento promedio de urea láctea de $0,768 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ por cada unidad de aumento en la urea plasmática, valores un tanto menores a los reportados para la regresión del presente ensayo. Los autores además realizan una regresión utilizando un modelo mixto y utilizando datos de 35 ensayos diferentes, obteniendo un valor de $R^2 = 0,842$. Por otra parte, Pardo (2008), reporta una regresión lineal muy similar a la que se obtuvo en el presente ensayo para estas dos variables, indicando que la concentración de urea láctea se incrementó en $0,901 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ por cada unidad de aumento en la concentración de este mismo metabolito en el plasma y obtienen un coeficiente de regresión de 0,7042.

La estrecha relación existente entre la urea plasmática y láctea, se explica ya que la urea sanguínea se equilibra rápidamente en los fluidos corporales. La urea sanguínea pasa el epitelio alveolar de la glándula mamaria difundándose en la leche (Wittwer, 1993). Es importante señalar que la concentración de urea en la leche no está sujeta a regulación por

mecanismos homeostáticos y tampoco presenta variaciones postprandiales, por lo que sería un mejor indicador del balance proteico que la concentración sanguínea (Oltner, 1983). Además, puesto que la leche se recoge fácilmente y la concentración de urea en ella puede ser estimada con precisión por métodos enzimáticos o físicos, se ha sugerido que una muestra tomada del estaque de acopio puede ser utilizada para diagnosticar la eficiencia de utilización de nitrógeno en un predio lechero (Nousianen, 2004).

En la Figura 12, se observa la ecuación de regresión lineal formulada entre el contenido de urea plasmática y el de amoníaco ruminal.

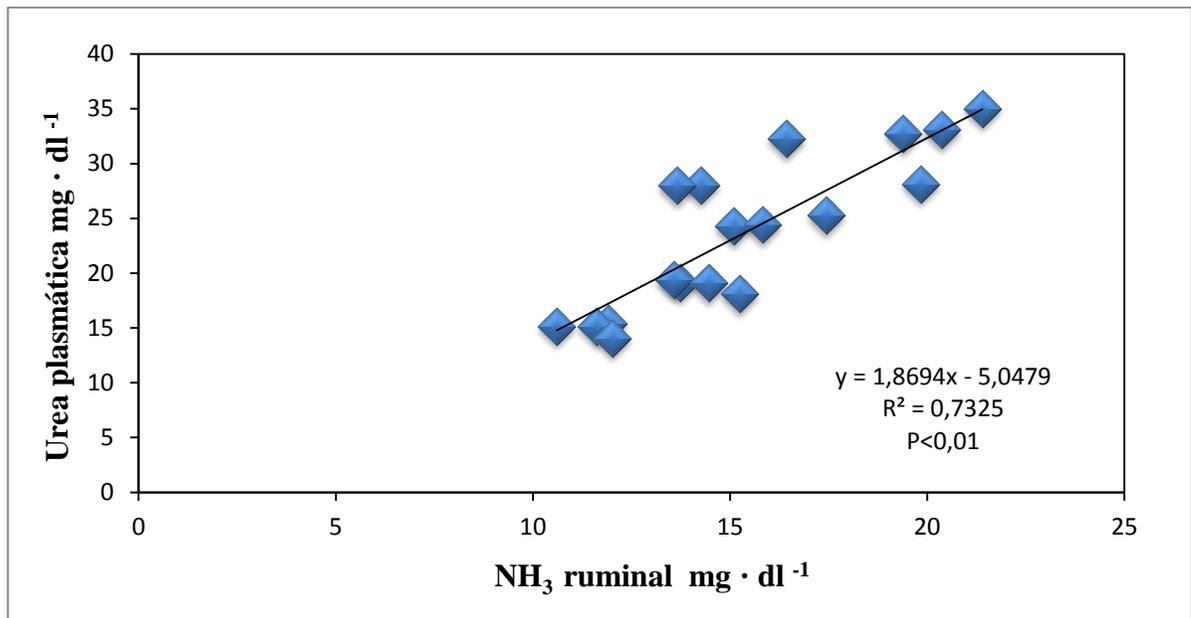


Figura 12. Ecuación de regresión lineal entre urea plasmática y NH₃ ruminal.

El modelo para urea plasmática fue significativo y explicó en un 73,25% la variación de este metabolito en la sangre, el porcentaje restante es explicado por otros procesos. La pendiente de la concentración de urea plasmática fue distinta de cero e indica un aumento promedio de 1,8694 mg · dl⁻¹ por cada unidad de aumento en el amoníaco ruminal. Esta regresión se realizó utilizando los datos obtenidos en las vacas fistuladas y no presento valores atípicos o inusuales (Figura 12).

La alta dependencia que existe en la concentración de urea láctea en relación al amoníaco ruminal se explicaría en gran medida por la dinámica que ocurre a nivel ruminal cuando existe un exceso de nitrógeno en comparación con la energía disponible, esto produce un aumento en la concentración de amoníaco ruminal, el cual atraviesa la pared ruminal y viaja al hígado por la vena porta, en donde es transformado a urea. El hígado también se encarga de convertir a urea el amoníaco que deriva de la desanimación de aminoácidos que provienen de la ingestión postruminal y del metabolismo proteico. Luego la urea pasa a la circulación sistémica y puede viajar hacia el riñón, órgano encargado de su excreción por la

orina, ingresar a la saliva y retornar al rumen, o difundir desde el torrente sanguíneo a la leche (Hammond, 1998).

Pardo (2008), indica una relación matemática o nivel de dependencia de la concentración de urea en plasma con amoníaco ruminal de 0,8902. Por su parte, Promkot y Wanapat (2004), señalan un coeficiente de regresión lineal de 0,97 e indican que la concentración de urea plasmática aumentaría en $1,03 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ por cada unidad de aumento en el amoníaco ruminal). Lo encontrado en este ensayo concuerda con lo reportado por Ruegg *et al.*, 1992 quienes enfatizaron que la concentración de urea plasmática es un buen indicador del amonio ruminal el cual es el resultado del consumo de energía y de la degradabilidad de la proteína ingerida.

5.13 Ecuaciones predictivas para estimar concentraciones de metabolitos plasmáticos y NH_3 ruminal.

Las ecuaciones generadas para determinar la concentración de urea plasmática y amoníaco plasmático a partir de la concentración de urea en la leche se presentan en el Cuadro 12. Ambas ecuaciones de regresión lineal fueron significativas ($P < 0,01$) y con pendiente distinta de cero.

Cuadro 12. Ecuaciones de regresión lineal generadas para la estimación de parámetros plasmáticos a partir de urea en leche.

Ecuación	Variables	R^2	P-Valor
$y = 0,7655x - 6,3603$ (Ec.1)	y: Urea Plasmática x: Urea Leche	0,7428	$P < 0,01$
$y = 0,0117x - 0,0632$ (Ec.2)	y: NH_3 Plasmático x: Urea Leche	0,5507	$P < 0,01$

La urea en leche es un parámetro que puede ser de mucha utilidad, primero como uno de los indicadores de calidad de leche en planta, pero más importante, como un reflejo muy ajustado de la eficiencia con que se están utilizando las proteínas de la dieta y la movilización de proteínas que la vaca en lactancia realiza durante el peak. Se han determinado estrechas correlaciones entre la urea en leche con la urea plasmática, con amoníaco plasmático y especialmente con el amoníaco ruminal, de modo que al aumentar éste último, se refleja inmediatamente en un incremento proporcional en la urea de la leche (Manterola, 2010).

La concentración de urea plasmática es el producto final del metabolismo de nitrógeno de los rumiantes y altas concentraciones indican una ineficiencia en la utilización de la

proteína dietaria. A pesar de esto, el contenido de urea en la sangre no puede ser medido de manera rutinaria debido a la dificultad de la obtención regular y fiable de muestras de sangre (Broderick y Clayton, 1997), pero debido a la alta asociación existente entre la urea plasmática y la urea en leche, aspecto que es confirmado en los resultados de este ensayo ($R^2=0,7428$; $P<0,01$.) se pueden generar ecuaciones que predigan el contenido de urea plasmático a partir del contenido de urea en leche (Ecuación 1). El beneficio de lo anterior radica en que las muestras de leche de un rebaño se pueden obtener de manera más fácil y rápida, además de provocar menor estrés en los animales. Nousianen (2004), indica que el contenido de urea en la leche puede ser utilizado para diagnosticar la eficiencia de utilización de la proteína en el predio.

También a partir de la concentración de urea en la leche se puede estimar la concentración de amoníaco plasmático (Ecuación 2), el cual si presenta valores altos indicaría que existe una alta tasa de degradación de proteínas dietarias a nivel ruminal, sumado a la movilización de proteínas de los tejidos, lo que estaría indicando un déficit de energía a nivel ruminal como metabólico del animal.

En el Cuadro 13, se presenta la ecuación de regresión lineal que se realizó mediante el uso de los datos obtenidos en las vacas fistuladas para estimar el contenido de amoníaco ruminal a partir del valor de la concentración de urea plasmática. El modelo generado fue significativo y la ecuación 3 presentó una pendiente positiva.

Cuadro 13. Ecuación de regresión lineal generada para estimar NH_3 ruminal a partir de la concentración de urea plasmática.

Ecuación	Variabes	R²	P-Valor
y = 0,3919x + 6,0915 (Ec. 3)	y: NH_3 Ruminal x: Urea Plasmática	0,7325	P < 0,01

Debido a la gran dependencia que existe entre estas dos variables, la ecuación generada es un buen estimador del contenido de amoníaco ruminal, por lo que puede ser utilizada para dar una visión general sobre la eficiencia con la cual se está usando la proteína de la dieta a nivel del rumen, ya que niveles elevados de amoníaco en el rumen indican que existe un elevado consumo de proteína altamente degradable pero sin un aporte de energía adecuado para que esta se convierta en proteína microbiana.

En resumen, las elevadas concentraciones de amoníaco en rumen se ven inmediatamente reflejadas en el amoníaco sanguíneo, en la urea sanguínea y especialmente en la urea de la leche, por lo que mediante la generación de estas ecuaciones predictivas, el productor puede estimar si la fracción proteica de la pradera y en general el nitrógeno que está ingresando al rumen, está siendo eficientemente utilizado.

6. CONCLUSIONES

Al aumentar el aporte de un concentrado compuesto en un 50% de maíz roleado al vapor y 50% avena entera en la dieta de vacas en lactancia, pastoreando una pradera con alto contenido de proteína degradable, se reduce la concentración de amoníaco ruminal y plasmático.

La incorporación del concentrado (50% maíz roleado al vapor y 50% avena entera) en la dieta de vacas en lactancia, reduce la concentración de urea plasmática y urea en leche.

La reducción en las concentraciones de amoníaco ruminal, urea plasmática y urea en leche, producto de la suplementación con un concentrado compuesto en un 50% de maíz y 50% de avena, no se traduce en incremento en la producción de leche ni en cambios en su composición.

7. BIBLIOGRAFIA

AGLE, M; HRISTOV, A.N; ZAMAN, S; SCHNEDER, C; NDEGWA, P.M y VADDELLA, VK. 2010. Effect of dietary concentrate on rumen fermentation, digestibility, and nitrogen losses in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:4211–4222.

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. 1993. Energy and protein requirements of ruminants. An advisory manual prepared by the AFRC Technical Committee on Responses to Nutrients. Wallingford: CAB International, 1993. 159 p.

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. 1995. Energy and protein requirements of ruminants. CAB internacional, Wallingford, UK. 159 p.

AGUILERA, P. 2003. Efecto de la suplementación con dos tipos diferentes de carbohidratos en el concentrado sobre la respuesta productiva, en vacas lecheras en pastoreo primaveral. Memoria de Título para optar al título de Médico Veterinario. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia, Chile. 32 p.

ALVAREZ, H.J; DICHIO, L y LARRIPA, M. 2007. Suplementación energética en vacas con distintos niveles de producción de leche y asignación de pastura. *Revista Argentina de Producción animal.* 27(3):151-157.

ANRIQUE, R; FUSHLOCHER, R; IRAIRA, S y SALDAÑA, R. 2010. Composición de alimentos para el ganado bovino. Cuarta edición. Fundación para la Innovación agraria, FIA, Ministerio de Agricultura. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 86 p.

ANRIQUE, R. 2011. Efecto de la alimentación en el contenido y producción de sólidos lácteos. Seminario: Sólidos lácteos, una mirada nutricional, genética y económica. Consorcio Lechero-Universidad Austral de Chile. Los Angeles, Chile, Marzo, 2011.

A.O.A.C. 2000. Official Methods of analysis. Association of official analytical chemist. EUA.

BAKER, R. 1985. Estimating herbage intake from animal performance. En: J. D. Leaver, ed. *Herbage Intake Handbook*. The British Grassland Society, Hurley, UK, pp. 77-93.

BACH, A. 2004. La reproducción del vacuno lechero: Nutrición y fisiología. XVII Curso de Especialización FEDNA. Purina España. Disponible en <http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/2001CAPV.pdf> Leído 27 de Octubre, 2011.

BACH, A; CASAMIGLIA, S y STERN M.D. 2005. Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 88(E Suppl.) E9-E21.

BALOCCHI, O; PULIDO, R; FERNANDEZ, J. 2002. Comportamiento de vacas lecheras en pastoreo con y sin suplementación de concentrado. *Agricultura Técnica* 62, 87-98.

BARGO, F; MULLER, L.D; VARGA, G.A; DELAHOY, J.E y CASSIDY T.W. 2002 a. Ruminal digestion and fermentation of high-producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 85:2964-2973.

BARGO, F; MULLER, L.D; DELAHOY, J.E y CASSIDY, T.W. 2002 b. Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 85:2948-2963.

BARGO, F; MULLER, L.D; DELAHOY, J.E y CASSIDY, T.W. 2002 c. Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. *J. Dairy Sci.* 85:1777-1792.

BARGO, F; MULLER, L.D; KOLVER y DELAHOY, J.E. 2003. Invited Review: production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. *J. Dairy Sci.* 86: 1 - 42.

BARTLEY, E.E.; DAVIDOVICH, A.D.; BARR, G.W.; GRIFFEL, G.W.; DAYTON, A.D.; DEYOE, C.W. y BECHTLE, R.M. 1976. Ammonia toxicity in cattle. I. Ruminal and blood changes associated with toxicity and treatment methods. *J. Anim. Sci.* 43: 835-841.

BERNDT, S. 2005. Estimación de la síntesis de proteína microbiana en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado. Tesis M. Sc. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Valdivia, Chile. 90 p.

BEUKELLEN, P. VAN. 1983. Studies on milk fat depression in high producing dairy cows. PhD Thesis, University of Utrecht.

BOSCHINI, C; AMADOR, A. 2001. Degradabilidad ruminal de la planta de maíz forrajero en diferentes edades de crecimiento. *Agronomía Mesoamericana*. 12(1):89-93.

BROCK, F.M; FORSBERG, C.W y BUCHANAN-SMITH J.G. 1982. Proteolytic activity of rumen microorganisms and effects of proteinase inhibitors. *Appl. Environ. Microbiol.* 44:561-569.

BRODERICK, G.A y CLAYTON, M.K. 1997. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *J. Dairy Sci.* 80:2964-2971.

BRODERICK, G.A. 2003. Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:1370.

BRODERICK, G.A; HUHTANEN, P; AHVENJARVI, S; REYNAL, S.M y SHINGFIELD, K.J. 2010. Quantifying ruminal nitrogen metabolism using the omasal sampling technique in cattle—A meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 93 :3216–3230.

BUTLER, W.R. 1998. Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 81:2533-2539.

CARREÑO, N. 2010. Efecto de la mezcla de carbohidratos de distinta degradabilidad sobre el metabolismo del amoníaco en vacas lecheras en pasturas con alto contenido de proteína. Tesis M.Sc. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 68 p.

CASTILLO, A.R. 1999. Improving nitrogen utilization in dairy cows. Ph.D.Thesis. University of Reading, UK.

CASTILLO, A.R; KEBREAB,E; BEEVER,D. E; BARBI, J.H y SUTTON, J.D. 2001. The effect energy supplementation on nitrogen utilization in lactating dairy cow fed grass silage diets. *J. Anim. Sci.* 79:240-246.

CERDA, D; MANTEROLA, H; SIRHAN, L e ILANES,R. 1987. Validación y estudios comparativos de métodos estimadores de la digestibilidad aparente de alimentos para rumiantes. IV. Estudio del método de digestibilidad enzimática como predictor de la digestibilidad aparente. *Avances en Producción Animal* 12 (1-2): 87-97.

CHASE, L.E. 2007. Understanding Nitrogen Utilization in Dairy Cattle. *Feed Management.* Cornell University. 6 p.

CORREA, H.J y CUELLAR, A.E. 2004. Aspectos claves del ciclo de la urea con relación al metabolismo energético y proteico en vacas lactantes. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 17(1): 29-38.

DEIROS, J; QUINTELA, L.A; PEÑA, A.I; BECERRA, J.J; BARRIO, M y ALONSO,G. 2004. Urea plasmática: relación con el equilibrio energético y parámetros reproductivos en vacunos lecheros. *Arch. Zootec.* 53:141.

DELABY, L; PEYRAUD, J.L y DELAGARDE, R. 2001.2001. Effect of the level of concentrate supplementation, herbage allowance and milk yield at turn-out on the performance of dairy cows in mid lactation at grazing. *Animal Science* 73:171-181.

- DELAHOY, J.E; MULLER, L.D; BARGO, F; CASSIDY, T.W y HOLDEN, L.A. 2003. Supplemental carbohydrate sources for lactating dairy cows on pasture. *Journal of Dairy Science* 86:906-915.
- DEWHURST, R.J; DAVIES, D.R y MERRY, R.J. 2000. Microbial protein supply from the rumen. *Anim. Feed Sci. Tech.* 85:1.
- DI RIENZO, *et al.* 2005. Estadística para las Ciencias Agropecuarias. Sexta Edición. Edición electrónica. Argentina. P. 164-165.
- DIJKSTRA, J; FRANCE, J y DAVIES, D.R. 1998. Different mathematical approaches to estimating microbial protein supply in ruminants. *J. Dairy Sci.* 81:3370–3384.
- FERGUSON, J.D; GALLIGAN, D.T; BLANCHARD, T y REEVES, M. 1993. Serum urea and conception rate : The usefulness of test information. *J. Dairy Sci.* 76:3742
- FERGUSON, J.D; GALLIGAN, D.T y THOMSEN, N. 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 77: 2695-2703.
- GALVIS, D.R; CORREA, H.J y RAMIREZ, N.F. 2003. Interacciones entre el balance nutricional, los indicadores del metabolismo energético y proteico y las concentraciones plasmáticas de Insulina, e IGF-1 en vacas en lactancia temprana. *Rev Col Cienc Pec Vol.* 16: 3, 237.
- GLEN, A; BRODERICK, A y MURRAY, K.C. 1997. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *J. Dairy Sci.* 80:2964–2971.
- GOZHO, G.N y MUTSVANGWA, T. 2008. Influence of carbohydrate source on ruminal fermentation characteristics, performance and microbial protein synthesis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91:2726-273.
- GUO, K; RUSSEK, E; COHEN, M; VARNER, A y KOHN, R.A. (2004): Effects of milk urea nitrogen and other factors on probability of conception of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87, 1878.
- HAMMOND, A. C. 1997. Update on BUN and MUN as a guide for protein supplementation in cattle. U. S. Department of Agriculture, Agricultural Reserch Service Subtropical Agricultural Reserch Station Brooksville, Florida. Pp: 45-54.
- HRISTOV, A.N; ROPP, J.K; GRANDEEN, K.L; ABEDI, S; ETTER, R.P; MELGAR, A y FOLEY, A.E. 2005. Effect of carbohydrate source on ammonia utilization in lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 83:408–421.

IBARRA, D ; LATRILLE, L y WITTWER,F. 2006. Incremento en la proteína no degradable en rumen de vacas lecheras. 2. Efectos sobre utilización y excreción del nitrógeno. Arch. med. Vet 38 n.3.

JAHN, E; BORQUEZ, F y MONSALVE, M. 1996. Influencia de dos ambientes ruminales en la degradación de avena y maíz grano y degradación de afrechillo de trigo, harinilla de arroz y coseta húmeda. Agricultura Técnica (Chile). 59(4):270-277.

KAMANDE, G. 2006. Digestión ruminal y nutrición. Congreso de Forrajes. Producir XXI, Bs. As., 15(180):52-57.

KAPLAN, A. 1969. The determination of urea, ammonia, and urease. In: GLICK, D. (ed). Methods of Biochemical Analysis. New York: John Wiley & Sons. p. 311-314.

KELLAWAY, R y PORTA, S. 1993. Feeding concentrates: Supplements for dairy cows. Dairy Research and Development Corporation, Glen Iris, Victoria, Australia.

KLEIN, F. 2001. Alimentación de vacas lecheras a pastoreo. Serie actas N° 13. Instituto de investigaciones agropecuarias. Centro Regional de investigación Remehue, Osorno, Chile. 6p.

LEWIS, D. 1957. Blood-urea concentration in relation to protein utilization in the ruminant. J. Agric. Sci. (Camb.) 48:438.

LOBLEY, G. E; MILANO, G.D y VAN DER WALT ,J. D. 2000. The liver: integrator of nitrogen metabolism. In: Cronjè, P. B. Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction. CAB International. 149 – 168.

MANTEROLA, H. 2010. Manejo nutricional del metabolismo proteico en vacas en lactancia pastoreando praderas ricas en proteína. Circular de extensión, Departamento de Producción Animal, Universidad de Chile.

MEESKE, R; ROTHAUGE, A; VAN DER MERWE, G.D y GREYLING, J.F. 2006. The effect of concentrate supplementation on the productivity of grazing Jersey cows on a pasture based system. S. Afr. J. Anim. Sci. 36, 105-110.

Mc EVOY, M; KENNEDY, E; MURPHY, J.P; BOLAND, T.M; DELABY, L and O'DONOVAN, M. 2008. The Effect of Herbage Allowance and Concentrate Supplementation on Milk Production Performance and Dry Matter Intake of Spring-Calving Dairy Cows in Early Lactation. J Dairy Sci 91, 1259-1269.

MELLA, C. 2007. Suplementación de vacas lecheras de alta producción a pastoreo II. Circular de Extensión Técnico Ganadera. N° 33.

- NOGUERA, R y OCHOA, S. 2007. Modelación de la cinética de degradación de alimentos para rumiantes. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 20:174-182.
- NOLAN, J.V y DOBOS, R.C. 2005. Nitrogen Transactions in Ruminants. En: *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism* . 2nd Edition. CAB International. Wallingford, UK. p. 137.
- NORO, M; VARGAS, V, PULIDO, R.G y WITTWER, F. 2006. Efecto del tipo de concentrado sobre indicadores sanguíneos del metabolismo de energía y de proteínas en vacas lecheras en pastoreo primaveral. *Arch Med Vet* 38, 227-232.
- NOUSIAINEN, J; SHINGFIELD, K; HUTHTANEN, P. 2004. Evaluation of milk urea nitrogen as a diagnostic of protein feeding. *J Dairy Sci* 87, 386-398.
- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL). 2001. Nutrient requirements of Dairy Cattle. 7 rev. ed. Washington, DC., USA. National Academy Press. 381 p.
- OLTNER, R. 1983. Factors affecting certain blood constituents and milk urea in Swedish dairy cattle. Ph.D. thesis Swedish Univ. Agric. Uppsala, Sweden, 130 p.
- ORSKOV, E.R y MCDONALD, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci., Camb.* 92:499-503.
- ORSKOV, E.R; HOVELL, F.D Y y MOULD, F. 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production* 5:195-213.
- ORSKOV, E.R. 1992. Protein Nutrition in Ruminants. 2nd Edition. Academic Press. New York, EUA.
- OYARZUN, 1997. Análisis de los resultados de perfiles metabólicos obtenidos de rebaños lecheros en el Sur de Chile 1986 – 1996. Tesis para optar al grado de Licenciado en Medicina Veterinaria. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile. 34 p.
- PARDO,O; CARULLA, J.E y HESS, H.D. 2008. Efecto de la relación proteína y energía sobre los niveles de amonio ruminal y nitrógeno ureico en sangre y leche, de vacas doble propósito del piedemonte llanero, Colombia. *Rev Colom Cienc Pecu*, Medellín, v. 21, n. 3. p. 387-397.
- PARGA, J y LANUZA, F. 2006. Suplementación de vacas lecheras a pastoreo En: *Manual de producción de leche para pequeños y medianos productores*. EL-17 Boletín INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias no. 148, p. 63-72.

PEDRAZA, C; MANSILLA, A; MERUCCI, N; PINEDO, P y CONTRERAS, H. 2006. Niveles de Urea Láctea en Vacas de la Región del Bío-Bío, Chile. *Agricultura Técnica*. 66(3):264-270.

PROMKOT, C y WANAPAT, M. 2004. Effect of level of cottonseed meal and protein in diets containing cassava chips and rice straw for lactating dairy cows. Sakon Nakhon Agricultural Research and Training Center, Rajamangala Institute of Technology Thailand. Disponible en: <http://www.mekarn.org/MSc/theses03/cham1.htm>. Leído el 10 de Noviembre de 2012.

PULIDO,R; CERDA, M y STEHR, W. 1999. Effect of level and type of concentrate supplementation on the performance of spring grazing dairy cows. *Arch Med Vet* 31,177-187.

PULIDO,R.G y LEAVER, J.D. 2000. Degradabilidad ruminal del forraje disponible en las praderas y el aparentemente consumido por vacas lecheras. *Pesq Agropec Bras* 35, 1003-1009.

PULIDO, R.G; ESCOBAR,A; FOLLERT, S; LEIVA, M; ORELLANA, P; WITWER, F y BALOCCHI, O. 2009. Efecto del nivel de suplementación con concentrado sobre la respuesta productiva en vacas lecheras a pastoreo primaveral con alta disponibilidad de pradera. *Arch Med Vet* 41, 197-204.

REIS, R.B y COMBS, D.K. 2000. Effects of increasing levels of grain supplementation on rumen environment and lactation performance of dairy cows grazing grass-legume pasture. *J. Dairy Sci.* 83:2888-2898.

RIQUELME,C y PULIDO,R. 2008. Efecto del nivel de suplementación con concentrado sobre el consumo voluntario y comportamiento ingestivo en vacas lecheras a pastoreo primaveral. *Arch Med Vet* 40, 243-249.

RUEGG, P.L y GOODGER, W.J. 1992. Relation among body condition score, milk production, and serum urea nitrogen and cholesterol concentrations in high producing Holstein dairy cows in early lactation. *American Journal of Veterinary Research*. v. 53, p. 5-9.

SATTER, L.D y SLYTER, L.L. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *Br. J. Nutr.*, vol. 32, p. 199-208.

SATTER, L.D y ROFFLER, R. 1975. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 58: 1219-1237.

SAYERS, H.J; MAYNE, C.S y BARTRAM, C.G. 2003. The effect of level and type of supplement offered to grazing dairy cows on herbage intake, animal performance and rumen fermentation characteristics. *Anim Sci* 76, 439-454.

- SINCLAIR, K.D; SINCLAIR, L.A y ROBINSON, J.J. 2000. Nitrogen metabolism and fertility in cattle: I. Adaptive changes in intake and metabolism to diets differing in their rate of energy and nitrogen release in the rumen. *J. Anim. Sci.* 78:2659–2669.
- SORIANO,F.D; POLAN, E y MILLER C.N. 2001. Supplementing pasture to lactating Holsteins fed a total mixed ration diet. *J.Dairy Sci.* 84:2460–2468.
- STEG, A; VAN STRAALLEN, W.M; HINDLE, V.A; WENSINK, .A; DOOPER,F.M.H y SCHILS, R.L.M. 1994. Rumen degradation and intestinal digestion of grass and clover at two maturity levels during the season in dairy cows. *Grass and Forage Sci*; 49:378-390.
- STORM, E y ORSKOV, E.R. 1993. The nutritive value of rumen microorganisms in ruminants. 1. Large-scale isolation and chemical composition of rumen microorganisms. *Br. J. Nutr.*50:46.
- VAN LIER, E y REGUEIRO, M. 2008. Digestión en retículo-rumen. Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 28 p.
- VAN SOEST, P.J; ROBERTSON, J y LEWIS, B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to nutrition. *J Dairy Sci* 74, 3583-3595.
- VAN SOEST, P.J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Cornell University Press. Ithaca, NY. p. 261.
- VELASQUEZ, Y. 2007. Degradabilidad ruminal del grano de maíz procesado por extrusión y rolado al vapor. Tesis para optar al grado de Licenciado en Agronomía. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia, Chile. 48 p.
- VYHMEISTER, B. 2005. Evaluación de la digestibilidad in vivo del grano de maíz extruido, rolado y molido en bovinos. Tesis para optar al grado de Licenciado en Agronomía. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia, Chile. 54 p.
- TAMMINGA, S. 1996. A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. *J. Anim. Sci.* 74:3112-3124.
- TAMMINGA, S. 1979. Protein degradation in the forestomachs of ruminants. *J. Anim. Sci.* 49:1615–1630.
- TEUBER, N y BALOCCHI, O. 2003. Recursos forrajeros en producción de leche, I. Balance alimenticio con los recursos del sur. En: Teuber N, Uribe H, Opazo L (eds). Seminario hagamos de la lechería un mejor negocio. Serie Actas N° 24, Instituto de

Investigación Agropecuaria, Centro Regional de Investigación Remehue, Osorno, Chile, 1-12.

TEUBER, N y DUMONT, J.C. 1996. Atributos de la pradera para la alimentación del rebaño lechero. In: Lanuza, F. y Bortolameolli, G. (eds.) III Seminario “Aspectos técnicos y perspectivas de la producción de leche”. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Centro Regional de Investigación Remehue. Serie Remehue n° 64. pp: 3-21.

TYRRELL, H y REID, J. 1965. Prediction of the energy value of cow's milk. *Journal of Dairy Science* 48, 1215-1223.

WITTWER, F.G; OPITZ, H; REYES, J; CONTRERAS, P y BOHMWALD, H. 1993. Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. *Arch. Med. Vet.* 25:165-172.

YANG, W. Z; BEAUCHEMIN, K. A y RODE, L. M. 2001. Effects of grain processing, forage to concentrate ratio, and forage particle size on rumen pH and digestion by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:2203–2216.

8. APÉNDICE

Resultados de análisis estadísticos para el estudio de la degradabilidad de la materia seca de la pradera en cada periodo.

Pradera Periodo 1

Resultados de la Estimación

			Intervalo Confianza α	
		Error Estándar	Asintótico	
Parámetro	Estimado	Asintótico	Inferior	Superior
A	34,6243	1,80228	30,8036	38,4449
B	62,5418	5,85313	50,1337	74,9499
C	0,0617024	0,0129753	0,034196	0,0892088

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio
Modelo	66882,5	3	22294,2
Residuo	124,601	16	7,78758
Total	67007,1	19	
Total (Corr.)	3909,0	18	

R-Cuadrada = 96,8125 porciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 96,414 porciento

Error estándar del est. = 2,79062

Error medio absoluto = 1,79652

Estadístico Durbin-Watson = 1,48337

Autocorrelación residual de retardo 1 = 0,231227

Pradera Periodo 2

Resultados de la Estimación

			Intervalo Confianza α	
		Error Estándar	Asintótico	
Parámetro	Estimado	Asintótico	Inferior	Superior
a	33,1365	2,27848	28,3063	37,9666
b	60,7939	5,67716	48,7588	72,8289
c	0,0705025	0,016018	0,0365458	0,104459

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio
Modelo	66798,3	3	22266,1
Residuo	192,239	16	12,0149
Total	66990,6	19	
Total (Corr.)	4132,25	18	

R-Cuadrada = 95,3478 porciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 94,7663 porciento

Error estándar del est. = 3,46626

Error medio absoluto = 2,30864

Estadístico Durbin-Watson = 1,36639

Autocorrelación residual de retardo 1 = 0,260103

Pradera Periodo 3

Resultados de la Estimación

			Intervalo Confianza α	
		Error Estándar	Asintótico	
Parámetro	Estimado	Asintótico	Inferior	Superior
a	35,5312	2,87955	29,4268	41,6356
b	60,1022	16,5092	25,1041	95,1002
c	0,0472058	0,0246663	-0,0050846	0,0994962

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio
Modelo	57911,1	3	19303,7
Residuo	337,276	16	21,0798
Total	58248,4	19	
Total (Corr.)	3086,3	18	

R-Cuadrada = 89,0718 por ciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 87,7058 por ciento

Error estándar del est. = 4,59127

Error medio absoluto = 3,0723

Estadístico Durbin-Watson = 2,28035

Autocorrelación residual de retardo 1 = -0,173287

Resultados de análisis estadísticos para el estudio de la degradabilidad de la pradera en cada periodo.

Pradera Periodo 1

Resultados de la Estimación

			Intervalo Confianza a	95,0%
		Error Estándar	Asintótico	
Parámetro	Estimado	Asintótico	Inferior	Superior
a	35,8213	3,23301	28,9676	42,6749
b	57,1961	4,77972	47,0636	67,3287
c	0,0989744	0,0223463	0,0516023	0,146347

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio
Modelo	81615,1	3	27205,0
Residuo	346,75	16	21,6719
Total	81961,9	19	
Total (Corr.)	4507,68	18	

R-Cuadrada = 92,3076 por ciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 91,346 por ciento

Error estándar del est. = 4,65531

Error medio absoluto = 3,31582

Estadístico Durbin-Watson = 1,32535

Autocorrelación residual de retardo 1 = 0,294337

Pradera Periodo 2

Resultados de la Estimación

			Intervalo Confianza a	95,0%
		Error Estándar	Asintótico	
Parámetro	Estimado	Asintótico	Inferior	Superior
a	28,8595	4,90289	18,4658	39,2532
b	69,2815	9,11977	49,9484	88,6146
c	0,0830935	0,0288217	0,0219941	0,144193

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio
Modelo	73109,2	3	24369,7
Residuo	846,159	16	52,8849
Total	73955,3	19	
Total (Corr.)	6490,79	18	

R-Cuadrada = 86,9637 por ciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 85,3342 por ciento

Error estándar del est. = 7,2722

Error medio absoluto = 5,43398

Estadístico Durbin-Watson = 1,67708

Autocorrelación residual de retardo 1 = 0,114651

Pradera Periodo 3

Resultados de la Estimación

			Intervalo Confianza α	
		Error Estándar	Asintótico	
Parámetro	Estimado	Asintótico	Inferior	Superior
a	33,9232	4,28553	24,8383	43,0082
b	59,3721	8,09417	42,2132	76,531
c	0,0825978	0,0294356	0,0201971	0,144999

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio
Modelo	72905,1	3	24301,7
Residuo	648,509	16	40,5318
Total	73553,6	19	
Total (Corr.)	4780,72	18	

R-Cuadrada = 86,4349 porciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 84,7393 porciento

Error estándar del est. = 6,36646

Error medio absoluto = 4,38006

Estadístico Durbin-Watson = 2,81002

Autocorrelación residual de retardo 1 = -0,411135

Resultados de análisis estadísticos para el estudio de la degradabilidad de la materia seca de la avena, maíz y del suplemento utilizado en el ensayo.

Avena

Resultados de la Estimación

			Intervalo Confianza α	
		Error Estándar	Asintótico	
Parámetro	Estimado	Asintótico	Inferior	Superior
a	69,1691	0,975472	67,1012	71,2371
b	14,0491	1,00493	11,9188	16,1795
c	0,739134	0,100165	0,526793	0,951475

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio
Modelo	127404,	3	42468,1
Residuo	15,3193	16	0,957458
Total	127420,	19	
Total (Corr.)	208,295	18	

R-Cuadrada = 92,6454 porciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 91,726 porciento

Error estándar del est. = 0,978498

Error medio absoluto = 0,713555

Estadístico Durbin-Watson = 0,551286

Autocorrelación residual de retardo 1 = 0,692453

Maíz

Resultados de la Estimación

			Intervalo Confianza α	
		Error Estándar	Asintótico	
Parámetro	Estimado	Asintótico	Inferior	Superior
a	53,7382	4,06706	45,1164	62,36
b	38,0379	14,9702	6,30244	69,7733
c	0,0582285	0,0494132	-0,0465229	0,16298

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio
Modelo	87123,3	3	29041,1
Residuo	643,811	16	40,2382

Total	87767,1	19	
Total (Corr.)	1979,51	18	

R-Cuadrada = 67,4762 por ciento
R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 63,4107 por ciento
Error estándar del est. = 6,34336
Error medio absoluto = 4,81091
Estadístico Durbin-Watson = 1,92873
Autocorrelación residual de retardo 1 = -0,0568484

Suplemento, 50%M-50%A

Resultados de la Estimación

Parámetro	Estimado	Error Estándar	Intervalo Confianza a	
			Asintótico	95,0%
			Inferior	Superior
a	63,1017	1,96951	58,9266	67,2769
b	26,0102	2,35097	21,0263	30,994
c	0,128488	0,0300476	0,0647893	0,192186

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio
Modelo	115555,	3	38518,4
Residuo	115,305	16	7,20656
Total	115671,	19	
Total (Corr.)	1037,64	18	

R-Cuadrada = 88,8877 por ciento
R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 87,4987 por ciento
Error estándar del est. = 2,6845
Error medio absoluto = 1,94213
Estadístico Durbin-Watson = 1,98854
Autocorrelación residual de retardo 1 = -0,0750537

Resultados análisis de varianza diseño completamente aleatorizado (DCA).

Consumo de Materia Seca

CMS pradera

Suma de Cuadrados Tipo I

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	23,0133	2	11,5066	18,63	0,000
Animal(Tratamiento)	62,6899	12	5,2242	8,46	0,000
Medida	10,4563	2	5,2282	8,47	0,002
Tratamiento*Medida	17,8669	4	4,4667	7,23	0,001
Residuo	14,8219	24	0,6176		
Total (corregido)	128,8483	44			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal (trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	23,0133	11,5066	2,2025	0,1531

CMS pradera/ 100 Kg de peso vivo

Suma de Cuadrados Tipo I

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	1,39832	2	0,69916	34,96	0,000
Animal(Tratamiento)	2,96720	12	0,24727	12,36	0,000
Medida	1,15468	2	0,57734	28,86	0,000
Tratamiento*Medida	0,56914	4	0,14229	7,11	0,001
Residuo	0,48004	24	0,02000		
Total (corregido)	6,56939	44			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal (trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	1,39832	0,69916	2,8275	0,0985

CMS Total

Suma de Cuadrados Tipo I

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	162,615	2	81,308	131,66	0,000
Animal(Tratamiento)	62,690	12	5,224	8,46	0,000
Medida	10,456	2	5,228	8,47	0,002
Tratamiento*Medida	17,867	4	4,467	7,23	0,001
Residuo	14,822	24	0,618		
Total (corregido)	268,450	44			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal (trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	162,615	81,308	15,5643	0,0004

Peso vivo, cambio de peso vivo y condición corporal.

Peso vivo

Suma de Cuadrados Tipo I

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	15044,7	2	7522,4	67,79	0,000
Animal(Tratamiento)	158178,5	12	13181,5	118,79	0,000
Medida	54735,0	20	2736,7	24,66	0,000
Tratamiento*Medida	4859,0	40	121,5	1,09	0,332
Residuo	26631,9	240	111,0		
Total (corregido)	259449,1	314			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal (trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	15044,7	7522,4	0,5706	0,5797

Peso Metabólico

Suma de Cuadrados Tipo I

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	362,428	2	181,214	65,89	0,000
Animal(Tratamiento)	3828,982	12	319,082	116,02	0,000
Medida	1343,738	20	67,187	24,43	0,000
Tratamiento*Medida	121,003	40	3,025	1,10	0,324
Residuo	660,080	240	2,750		
Total (corregido)	6316,232	314			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal (trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	362,428	181,214	0,5679	0,5812

Peso inicial

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	975	2	487	0,81	0,470
Residuo	7260	12	605		
Total (corregido)	8235	14			

Peso Final

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	1255	2	627	0,76	0,49
Residuo	9929	12	827		
Total (corregido)	11183	14			

Cambio peso vivo

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	0,246	2	0,123	0,15	0,866
Residuo	10,162	12	0,847		
Total (corregido)	10,4	14			

Condición Corporal

Suma de Cuadrados Tipo I

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	0,37733	2	0,18867	7,65	0,003
Animal(Tratamiento)	0,24400	12	0,02033	0,82	0,626
Medida	0,01733	2	0,00867	0,35	0,707

Tratamiento*Medida	0,07733	4	0,01933	0,78	0,547
Residuo	0,59200	24	0,02467		
Total (corregido)	1,30800	44			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal (trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	0,3773	0,1886	9,2803	0.0036

Parametros Plasmáticos

NH₃ Plasmático

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	3.73266168	29	0.12871247	3.1	0.0001
Residuo	2.48789228	60	0.04146487		
Total (Corr.)	6.22055396	89			

Suma de Cuadrados Tipo I

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	0.53852412	2	0.26926206	6.49	0.0028
Animal(Tratamiento)	0.82374103	12	0.06864509	1.66	0.1005
Medida	1.30273057	5	0.26054611	6.28	<.0001
Tratamiento*Medida	1.06766596	10	0.10676660	2.57	0.0116
Residuo	2.48789228	60	0.04146487		
Total (corregido)	6.22055396	89			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal(trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	0.53852412	0.26926206	3.92	0.0489

Urea Plasmática

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	4959.733338	29	171.025288	8.81	<.0001
Residuo	1164.098070	60	19.401634		
Total (Corr.)	6123.831407	89			

Suma de Cuadrados Tipo I

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	681.240078	2	340.620039	17.56	<.0001
Animal(Tratamiento)	486.984913	12	40.582076	2.09	0.0310
Medida	3633.155441	5	726.631088	37.45	<.0001
Tratamiento*Medida	158.352906	10	15.835291	0.82	0.6143
Residuo	1164.098070	60	19.401634		
Total (corregido)	6123.831407	89			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal (trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	681.2400782	340.6200391	8.39	0.0052

Parametros de Produccion y composición de la leche.

Produccion de Leche

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	1626,53	47	34,6071	5,54	0,0000
Residuo	823,908	132	6,24173		
Total (Corr.)	2450,44	179			

Suma de Cuadrados Tipo I

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	60,3834	2	30,1917	4,84	0,0094
Animal(Tratamiento)	973,236	12	81,103	12,99	0,0000
Medida	331,681	11	30,1528	4,83	0,0000
Tratamiento*Medida	261,234	22	11,8743	1,90	0,0141
Residuo	823,908	132	6,24173		
Total (corregido)	2450,44	179			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal (trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	12	30,1917	0,3722	0,6968

Contenido de grasa

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	27.39196652	20	1.36959833	9.99	<.0001
Residuo	3.28937337	24	0.13705722		
Total (Corr.)	30.68133989	44			

Suma de Cuadrados Tipo I

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	9.56632183	2	4.78316091	34.90	<.0001
Animal(Tratamiento)	16.19701702	12	1.34975142	9.85	<.0001
Medida	0.63788200	2	0.31894100	2.33	0.1192
Tratamiento*Medida	0.99074567	4	0.24768642	1.81	0.1604
Residuo	3.28937337	24	0.13705722		
Total (corregido)	30.68133989	44			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal (trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	9.56632183	4.78316091	3.54	0.0617

Contenido de Proteína

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	7.62487055	20	0.38124353	27.34	<.0001
Residuo	0.33472089	24	0.01394670		
Total (Corr.)	7.95959144	44			

Suma de Cuadrados Tipo I

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	0.37686746	2	0.18843373	13.51	0.0001
Animal(Tratamiento)	7.18332875	12	0.59861073	42.92	<.0001
Medida	0.03421717	2	0.01710859	1.23	0.3110
Tratamiento*Medida	0.03045717	4	0.00761429	0.55	0.7036
Residuo	0.33472089	24	0.01394670		
Total (corregido)	7.95959144	44			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal(trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	0.37686746	0.18843373	0.31	0.7358

VEKg

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	2.58039247	20	0.12901962	11.69	<.0001
Residuo	0.26498245	24	0.01104094		
Total (Corr.)	2.84537492	44			

Suma de Cuadrados Tipo I

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	0.78879654	2	0.39439827	35.72	<.0001
Animal(Tratamiento)	1.68072388	12	0.14006032	12.69	<.0001
Medida	0.03656571	2	0.01828285	1.66	0.2120
Tratamiento*Medida	0.07430635	4	0.01857659	1.68	0.1868
Residuo	0.26498245	24	0.01104094		
Total (corregido)	2.84537492	44			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal(trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	0.78879654	0.39439827	2.82	0.0994

VEpt

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	19886,7	47	423,122	5,69	0,0000
Residuo	9813,24	132	74,3427		
Total (Corr.)	29699,9	179			

Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	625,909	2	312,955	4,21	0,0169
Animal(Tratamiento)	10856,0	12	904,67	12,17	0,0000
Medida	4118,98	11	374,452	5,04	0,0000
Tratamiento*Medida	4285,79	22	194,809	2,62	0,0004

Residuo	9813,24	132	74,3427		
Total (corregido)	29699,9	179			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal (trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	12	312,955	0,3459	0,7143

PLCE

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	2022,12	47	43,0238	5,69	0,0000
Residuo	997,707	132	7,55839		
Total (Corr.)	3019,83	179			

Suma de Cuadrados Tipo I

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	63,6364	2	31,8182	4,21	0,0169
Animal(Tratamiento)	1103,71	12	91,9756	12,17	0,0000
Medida	418,832	11	38,0757	5,04	0,0000
Tratamiento*Medida	435,943	22	19,8156	2,62	0,0004
Residuo	997,707	132	7,55839		
Total (corregido)	3019,83	179			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal (trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	12	31,8182	0,3459	0,7143

PPROT

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	1,7593E6	47	37431,9	4,72	0,0000
Residuo	1,04764E6	132	7936,7		
Total (Corr.)	2,80694E6	179			

Suma de Cuadrados Tipo I

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	5074,95	2	2537,48	0,32	0,7269
Animal(Tratamiento)	1,02247E6	12	85206,2	10,74	0,0000
Medida	362565,	11	32960,4	4,15	0,0000
Tratamiento*Medida	369186,	22	16781,2	2,11	0,0051
Residuo	1,04764E6	132	7936,7		
Total (corregido)	2,80694E6	179			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal (trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	12	2537,48	0,0297	0,9707

PGRAS

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	5,32964E6	47	113397,	7,95	0,0000
Residuo	1,88342E6	132	14268,4		
Total (Corr.)	7,21306E6	179			

Suma de Cuadrados Tipo I

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	807593,	2	403796,	28,30	0,0000
Animal(Tratamiento)	2,59825E6	12	216521,	15,17	0,0000
Medida	892775,	11	81161,4	5,69	0,0000
Tratamiento*Medida	1,03102E6	22	46864,6	3,28	0,0000
Residuo	1,88342E6	132	14268,4		
Total (corregido)	7,21306E6	179			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal (trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	12	403796	1,8649	0,1971

Urea Lactea

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	2732,463111	20	136,623156	40,21	<.0001
Residuo	81,541333	24	3,397556		
Total (Corr.)	2814,004444	44			

Suma de Cuadrados Tipo I

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	833.544444	2	416.772222	122.67	<.0001
Animal(Tratamiento)	1035.566667	12	86.297222	25.40	<.0001
Medida	821.032444	2	410.516222	120.83	<.0001
Tratamiento*Medida	42.319556	4	10.579889	3.11	0.0338
Residuo	81.541333	24	3.397556		
Total (corregido)	2814.004444	44			

Tests of Hypotheses Using the Type I MS for Animal(trat) as an Error Term

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	833,5444444	416,7722222	4,83	0,0289

Resultados análisis de varianza diseño cuadrado latino (DCL).**NH₃ Ruminal**

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
trat	3	a b c
row	3	1 2 3
col	3	1 2 3
tiempo	2	am pm

Number of Observations Read 18

Number of Observations Used 18

Dependent Variable: NH₃ RUMINAL

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	7	93.2238889	13.3176984	4.03	0.0235
Error	10	33.0722222	3.3072222		
Corrected Total	17	126.296111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	nh3 Mean
0.738137	11.71177	1.818577	15.52778

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	44.48111111	22.24055556	6.72	0.0141
row	2	28.28444444	14.14222222	4.28	0.0455
col	2	19.92444444	9.96222222	3.01	0.0946
tiempo	1	0.53388889	0.53388889	0.16	0.6963

pH

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
trat	3	a b c
row	3	1 2 3
col	3	1 2 3

Number of Observations Read 9

Number of Observations Used 9

Dependent Variable: pH

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	0.35333333	0.05888889	4.42	0.1961
Error	2	0.02666667	0.01333333		
Corrected Total	8	0.38000000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.929825	1.823211	0.115470	6.333333

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	2	0.14000000	0.07000000	5.25	0.1600
row	2	0.20666667	0.10333333	7.75	0.1143
col	2	0.00666667	0.00333333	0.25	0.8000

Regresiones Lineales

Urea láctea v/s NH₃ Plasmático

Estadísticas de la regresión

Coefficiente de correlación múltiple	0,742113569
Coefficiente de determinación R ²	0,55073255
R ² ajustado	0,539774807
Error típico	5,545498461
Observaciones	43

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	1545,613227	1545,613227	50,2596717	1,23278E-08
Residuos	41	1260,85468	30,75255318		
Total	42	2806,467907			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	21,76624036	2,95064342	7,376777626	4,8673E-09
Variable X 1	47,24515704	6,664191575	7,089405596	1,2328E-08

Urea láctea v/s Urea Plasmática

Estadísticas de la regresión

Coefficiente de correlación múltiple	0,861874866
Coefficiente de determinación R ²	0,742828285
R ² ajustado	0,736847547
Error típico	4,102416613
Observaciones	45

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	2090,322096	2090,322096	124,203458	2,90907E-14
Residuos	43	723,6823489	16,82982207		
Total	44	2814,004444			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	16,91850423	2,313875255	7,311761597	4,5636E-09
Variable X 1	0,970328605	0,087066681	11,14466051	2,9091E-14

Urea Plasmática v/s NH₃ ruminal

Estadísticas de la regresión

Coefficiente de correlación múltiple	0,855876739
Coefficiente de determinación R ²	0,732524993
R ² ajustado	0,715807805
Error típico	3,726411495
Observaciones	18

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	608,4723437	608,4723437	43,81867305	5,89533E-06

Residuos	16	222,1782821	13,88614263		
Total	17	830,6506258			
		Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción		-5,047854115	4,430849333	-1,139252034	0,271367748
Variable X 1		1,869358194	0,282398844	6,619567437	5,89533E-06

Regresiones lineales para generar ecuaciones predictivas.

Ecuación para estimar urea en sangre a partir de urea láctea.

Estadísticas de la regresión

Coefficiente de correlación múltiple	0,86187487
Coefficiente de determinación R ²	0,74282829
R ² ajustado	0,73684755
Error típico	3,64388904
Observaciones	45

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	1649,16449	1649,16449	124,203458	2,9091E-14
Residuos	43	570,950876	13,2779273		
Total	44	2220,11536			
	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	
Intercepción	-6,36030307	2,92148319	-2,17708016	0,03501015	
Variable X 1	0,76554301	0,06869146	11,1446605	2,9091E-14	

Ecuación para estimar NH₃ plasmático a partir de urea láctea.

Estadísticas de la regresión

Coefficiente de correlación múltiple	0,74211357
Coefficiente de determinación R ²	0,55073255
R ² ajustado	0,53977481
Error típico	0,08710712
Observaciones	43

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	0,38135283	0,38135283	50,2596717	1,23278E-08
Residuos	41	0,31109368	0,00758765		
Total	42	0,69244651			
	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	
Intercepción	-0,06315412	0,07001374	-0,90202466	0,372312538	
Variable X 1	0,01165691	0,00164427	7,0894056	1,23278E-08	

Ecuación para estimar NH₃ ruminal a partir de urea plasmática.

Estadísticas de la regresión

Coefficiente de correlación múltiple	0,85587674
Coefficiente de determinación R ²	0,73252499
R ² ajustado	0,7158078
Error típico	1,70611974
Observaciones	18

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	127,549347	127,549347	43,81867305	5,8953E-06

Residuos	16	46,5735132	2,91084457	
Total	17	174,12286		
	Coeficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	6,09146077	1,45948942	4,17369299	0,00071688
Variable X 1	0,39185909	0,05919708	6,61956744	5,89533E-06