



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**EFFECTO DE LA ETAPA DE LACTANCIA EN LA RESPUESTA EN
PRODUCCIÓN DE LECHE Y SÓLIDOS LÁCTEOS
A LA PROVISIÓN DE ACETATO EN VACAS LECHERAS**

DANIEL IGNACIO URRUTIA CARVAJAL

**Santiago, Chile
2022**



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**EFFECTO DE LA ETAPA DE LACTANCIA EN LA RESPUESTA EN
PRODUCCIÓN DE LECHE Y SÓLIDOS LÁCTEOS
A LA PROVISIÓN DE ACETATO EN VACAS LECHERAS**

**EFFECT OF THE LACTATION STAGE ON THE RESPONSE IN MILK YIELD
AND MILK SOLIDS TO ACETATE SUPPLY IN DAIRY COWS**

DANIEL IGNACIO URRUTIA CARVAJAL

**Santiago, Chile
2022**



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

EFFECTO DE LA ETAPA DE LACTANCIA EN LA RESPUESTA EN PRODUCCIÓN DE LECHE Y SÓLIDOS LÁCTEOS A LA PROVISIÓN DE ACETATO EN VACAS LECHERAS

Memoria para optar al título
Profesional de Ingeniero Agrónomo

DANIEL IGNACIO URRUTIA CARVAJAL

	Calificaciones
PROFESOR GUÍA Sr. Humberto González V. Ingeniero Agrónomo, Mg. Sc.	6,5
PROFESORES EVALUADORES Sr. Luis Piña M. Ingeniero Agrónomo, Mg. Sc. Dr.	6,3
Sra. María De la Luz Hurtado P. Ingeniera Agrónoma, Mg. Sc. Dra.	6,0
COLABORADOR Natalie Urrutia C. Médico Veterinaria, Dra.	

Santiago, Chile
2022

AGRADECIMIENTOS

A todas las personas que hicieron posible la realización de este trabajo.

Mi profesor guía Humberto González y mi colaboradora Natalie Urrutia, por su paciencia, sabiduría y consejos.

A mis amigos que estuvieron conmigo en todo momento apoyándome.

A mi familia, mi padre, mi madre y mi hermana que me dan la fuerza para seguir adelante.

A todos ustedes muchas gracias.

Daniel

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	1
SUMMARY	2
INTRODUCCIÓN	3
MATERIALES Y MÉTODOS	6
Lugar de estudio.....	6
Materiales.....	6
Métodos.....	7
Análisis estadístico.....	8
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
Producción de leche	10
Consumo de materia seca.....	12
Producción de grasa	13
Contenido de grasa.....	14
Producción de proteína.....	16
Contenido de proteína	18
CONCLUSIONES	19
BIBLIOGRAFÍA	20
APÉNDICE.....	22

RESUMEN

Se realizó un ensayo en las dependencias del Instituto de Investigaciones Agropecuarias Remehue, región de Los Lagos, Chile. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la etapa de lactancia en la producción de leche, sólidos lácteos y consumo de materia seca al suministrar acetato. El estudio se llevó a cabo durante el periodo de primavera del año 2019 y otoño del año 2020 y tuvo una duración de nueve meses. Se utilizaron ocho vacas de la raza Holstein Friesian canuladas en el rumen de parición primavera para analizar parámetros productivos y composicionales. Las vacas fueron asignadas al azar en un diseño en cuadrados latinos de 2 x 2, con dos tratamientos y dos periodos, en tres etapas de lactancia. Los tratamientos fueron: Acetato (acetato de sodio) y Control (cloruro de sodio). Ambos tratamientos fueron infundidos a través de una cánula ruminal durante cinco días. Los animales fueron alimentados con una ración totalmente mezclada con una proporción 50:50 de forraje y concentrado. Se ordeño dos veces al día, a las 07:30 y 17:30 horas y la producción y composición de leche se analizó diariamente tomando muestras de cada ordeña. El consumo de materia seca también fue calculado de forma diaria.

En relación con los parámetros productivos, el tratamiento con acetato en promedio disminuyó significativamente la producción de leche ($P < 0,05$) durante todas las etapas de lactancia ($1,03 \text{ kg día}^{-1}$). La producción de grasa aumentó significativamente con el tratamiento acetato en la Etapa 1 y Etapa 2 ($0,11$ y $0,06 \text{ kg día}^{-1}$, respectivamente, ambos $P < 0,05$). La producción de proteína disminuyó significativamente con el tratamiento acetato en las Etapa 1 y Etapa 3 ($0,08$ y $0,03 \text{ kg día}^{-1}$, respectivamente, ambos $P < 0,05$). El consumo de materia seca no fue afectado por los tratamientos ($P > 0,05$).

Con respecto a los parámetros composicionales, en el tratamiento acetato aumentó significativamente el contenido de grasa, en las etapas Etapa 1 y Etapa 2 ($0,5$ y $0,3 \%$, respectivamente, ambos $P < 0,05$); mientras que disminuyó significativamente el contenido de proteína ($P < 0,05$) en la etapa 1 ($0,11\%$).

En las condiciones de este ensayo, se concluye que, dependiendo de la etapa de lactancia, el aporte de acetato puede tener un efecto positivo sobre la producción y contenido de grasa láctea. Por otro lado, puede tener un efecto negativo sobre la producción de leche, la producción y contenido de proteína. Sin embargo, no afecta el consumo de materia seca.

Palabras clave: Producción de Leche, Grasa láctea, Proteína Láctea, Consumo de Materia Seca, Acetato de Sodio.

SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the interaction effect of lactation stage and acetate supply on milk yield and composition, and dry matter intake. This study was conducted at Instituto de Investigaciones Agropecuarias Remehue facilities, Los Lagos region, Chile, through spring 2019 and autumn 2020. Eight spring-calving ruminally cannulated Holstein Friesian cows were used to analyze productive and compositional parameters. Cows were randomly assigned to treatments in a 2 x 2 latin square design with two periods and two treatments, in three lactation stages. Treatments were Acetate (sodium acetate) and Control (sodium chloride). Both treatments were applied through a rumen canula during five days. Animals were fed with a 50:50 forage-concentrate totally mixed ration. Cows were milked twice daily at 07:30 and 17:30 hours, milk yield and composition were determined taking samples at each milking. Dry matter intake was also calculated daily.

Acetate supply significantly decreased milk yield ($P < 0.05$) through all lactation stages (1.03 kg day^{-1}). Milk fat yield significantly increased ($P < 0.05$) in Stage 1 and Stage 2 (0.11 and 0.06 kg day^{-1} , respectively). Protein yield significantly decreased ($P < 0.05$) in Stage 1 and Stage 3 (0.08 and 0.03 kg day^{-1} , respectively). Dry matter intake did not show significant differences ($P > 0.05$) between treatments. Milk fat concentration significantly increased ($P < 0.05$) in Stage 1 and Stage 2 (0.56 and 0.36% , respectively). Milk protein concentration significantly decreased ($P < 0.05$) in Stage 1 (0.11%).

Under this trial conditions it is concluded that, depending on the stage of lactation, acetate supply may have a positive effect on milk fat yield and concentration. On the other hand, it may have a negative effect on milk yield, protein yield and content. However, it does not affect dry matter intake.

Keywords: Milk Yield, Milk Fat, Milk Protein, Dry Matter Intake, Sodium Acetate, Sodium Chloride.

INTRODUCCIÓN

La vaca lechera es uno de los animales de granja más eficientes en la conversión de forraje y subproductos de alimentos difícilmente utilizados por las personas hacia productos de consumo humano. La producción de leche es muy variable entre países, dependiendo principalmente por el potencial genético y raza del ganado, sistemas de alimentación, manejos y medidas de salud y prevención de enfermedades, sistema de ordeña y estrés asociado al clima (Church, 1980).

El valor de la leche pagado a productores lecheros es afectado por fluctuaciones cíclicas de la economía, variando según cambia la oferta y la demanda. En consecuencia, la dinámica del mercado permite a las empresas establecer características de la leche requerida, fijando una política de incentivos monetarios según el cumplimiento de rangos establecidos para distintos parámetros. Así, los que más destacan por su importancia económica para los productores son la producción de leche y sólidos lácteos (Vargas, 2000; Carrillo y Vidal, 2001).

Actualmente, el éxito económico está cada vez más ligado a la producción de sólidos por unidad de superficie, en lugar del rendimiento por vaca (Delgadillo *et al.*, 2016). Esto, debido a la importante ponderación que otorga la industria al contenido de sólidos en la determinación del precio de la leche cruda, y especialmente a la proteína que tiene un valor casi 5 veces más alto que la grasa (Uribe *et al.*, 2017). Lo último es importante, dado el escenario que se presenta en otros países productores de leche, donde se ha reducido la diferencia e incluso invertido la relación, aumentando la valoración de la grasa láctea por sobre la proteína, situación que también podría ocurrir en Chile (ODT, 2018; LIC, 2019; Dairy NZ, 2020; UW 2020). Esto se debe a una revalorización de la grasa láctea por sus aptitudes tecnológicas para la fabricación de subproductos lácteos y por el mayor conocimiento sobre los ácidos grasos que se encuentran en la leche bovina y sus propiedades benéficas en la salud humana.

En cuanto a la síntesis de componentes lácteos, la proteína láctea (caseína y otras proteínas) es elaborada en la glándula mamaria a partir de aminoácidos libres en el plasma sanguíneo. Este componente es poco variable y se afecta principalmente por la raza y potencial genético del animal. Sin embargo, la grasa láctea es el componente más variable en la leche influenciado por nutrición y ambiente a un nivel mucho mayor que la proteína láctea. La grasa láctea proviene de 3 fuentes: la dieta (1), en donde los ácidos grasos absorbidos durante la digestión en el intestino delgado son incorporados en triglicéridos en quilomicrones; grasa endógena (2) en forma de ácidos grasos libres liberado por el tejido adiposo o como ácidos grasos en lipoproteínas sintetizadas en el hígado; y de síntesis *de novo* (3) en la glándula mamaria. En la glándula mamaria, la síntesis de grasa *de novo* es a partir de acetato y b-hidroxibutirato, ambos provienen de la fermentación microbiana de la dieta del rumiante. El acetato es el ácido graso volátil predominante producido en el rumen y provee aproximadamente 45% de los requerimientos energéticos de la vaca lechera, mientras que, el b-hidroxibutirato es formado a partir de butirato durante su absorción por la pared ruminal, pero se produce en menor proporción que el acetato. (Holmes, 2002).

Cabe destacar, que existe un efecto muy notorio de la raza bovina en el contenido de grasa y proteína. Por ejemplo, la raza Holstein presenta 3,5% y 3,1%; Pardo Suizo 4,0% y 3,6%; Ayrshire 4,1% y 3,6%; Jersey 5,5% y 3,9% de grasa y proteína láctea, respectivamente (Schmidt, 1971)

También, la etapa de lactancia influye en el contenido de grasa y proteína. Al inicio de la lactancia, se produce calostro, con alta concentración de grasa y proteína. Posteriormente, la materia grasa disminuye durante los primeros dos meses de lactancia y tiende a aumentar nuevamente en forma gradual y lenta conforme la lactancia progresa. A su vez, la proteína total cae abruptamente en pocos días, en la transición de calostro hacia leche y alcanza el mínimo alrededor de la quinta a decima semana de lactancia, correspondiendo con la máxima producción de leche, posteriormente el contenido de proteína tiende a aumentar gradualmente conforme progresa la lactancia o bien aumenta cuando la vaca queda gestante (Morales, 1999).

Dependiendo de la etapa de lactancia, el manejo alimenticio puede afectar significativamente tanto el volumen como la concentración de nutrientes en la leche. Durante la primera fase de lactancia y hasta el término del *peak* la mayor parte de los nutrientes de la leche provienen de la movilización de reservas de los tejidos de depósito (adiposo y muscular) lo cual sumado a la reducción del consumo por efectos de la gestación previa, provoca balances negativos tanto de energía como de proteínas. Durante esta fase, como el consumo es limitado, se puede lograr un mayor impacto en los sólidos, utilizando concentrados tanto energéticos como proteicos. Durante la segunda y tercera etapa, es donde más se puede lograr modificar las concentraciones de sólidos totales, con manejo alimenticio adecuado, en estas fases el manejo nutricional cobra importancia ya que permite mantener una mejor persistencia de la lactancia y aumentar los contenidos de grasa y proteína (Manterola, 2010)

Un meta análisis realizado a partir de publicaciones entre los años 1955 y 1978, reportó que las infusiones de acetato incrementaban linealmente la producción y concentración de grasa láctea. Sin embargo, las condiciones de dichos experimentos limitaban la solidez de las conclusiones (Maxin *et al.*, 2011, citado por Urrutia y Harvatine, 2017).

Urrutia y Harvatine, (2017) reportaron un incremento cuadrático de la producción de grasa láctea en 7% (+ 100g día⁻¹), 16% (+ 220g día⁻¹) y 14% (+ 180g día⁻¹) con infusiones ruminales de acetato de 5, 10 y 15 mol acetato día⁻¹, respectivamente. En un estudio posterior, se observó un aumento en la producción y concentración de grasa láctea de 90g día⁻¹ y 0,2%, respectivamente al suplementar la dieta con 600 g día⁻¹ de acetato de sodio en la ración totalmente mezclada (Urrutia *et al.*, 2019).

Considerando los resultados de los estudios anteriormente mencionados, surge la necesidad de investigar más en detalle aquellos factores que afectan la respuesta al suministro de acetato como la fermentabilidad de la dieta o la etapa de lactancia. De esta manera, se podría avanzar en el desarrollo de estrategias de suplementación con mayor precisión.

Hipótesis:

- En vacas lecheras, la respuesta productiva y composicional de leche al suministro de acetato varía según la etapa de lactancia en que se encuentren.

Objetivo General:

- Evaluar el efecto del suministro de acetato en variables productivas y composicionales de vacas lecheras en tres diferentes etapas de lactancia.

Objetivos específicos:

- Evaluar el efecto del suministro de acetato en la producción de leche en tres etapas de lactancia.
- Evaluar el efecto del suministro de acetato en el consumo de materia seca en tres etapas de lactancia.
- Evaluar el efecto del suministro de acetato en la producción y contenido de grasa láctea en tres etapas de lactancia.
- Evaluar el efecto del suministro de acetato en la producción y contenido de proteína láctea en tres etapas de lactancia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El estudio se realizó en las dependencias del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) Remehue, ubicado en la Región de Los Lagos. Utilizando las instalaciones de la Unidad de Digestión y Metabolismo Intensivo, en conjunto con los laboratorios del Centro de Investigación Lechero.

Materiales

- Animales
 - Se utilizaron 8 vacas Holstein Friesian en lactancia y fistuladas en el rumen, del rebaño lechero de INIA Remehue. Las vacas fueron de parición primavera.

- Alimentos
 - Ensilaje de pradera
 - Afrecho de Canola
 - Harina de Soya
 - Maíz molido
 - Mezcla de vitaminas y minerales
 - Horno de aire forzado Memmert UF 750
 - Balanza
 - Betonera
 - Herramientas (carretilla, horqueta, pala)

- Soluciones de los tratamientos
 - Ácido Acético Glacial
 - Ácido Clorhídrico
 - Agua Potable
 - Cloruro de Sodio
 - Hidróxido de Sodio
 - Medidor de pH
 - Balanza O'HAUS
 - Tubo volumétrico 1L
 - Implementos de protección personal

- Líneas de infusión ruminal
 - Tubo resistente al ácido (L/S 14, Norprene, Masterflex)
 - Bombas peristálticas (L/S drive 7522-30, Masterflex)
 - Amarras de cable plásticas
 - Cinta adhesiva
 - Abrazaderas
 - Frascos de HDPE 500 mL perforados

- Manguera jardín ¾"
- Muestras de leche
 - Equipo portátil de ordeña Legend
 - Viales de plástico de 30 mL
 - Etiquetas adhesivas para identificación
 - Balanza
- Software estadístico
 - SAS (Statistical Analysis Software) Ondemand

Métodos

Todos los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité de Ética y Bienestar Animal de INIA.

Para determinar el tamaño de la muestra, se usó un T-test de 2 muestras (Statistical Solutions, LLC). Basado en estudios previos, se estimó un 16% de incremento en la producción de grasa láctea (1,37 a 1,6 kg/grasa/día; $\sigma=0,16$), que para un poder deseado de 0,85 y un alfa de 0,05 se determinó una muestra de 8 vacas.

Las vacas fueron asignadas a 1 de 3 bloques, agrupándolas según el desfase temporal entre sus pariciones. Debiendo realizarse el ensayo por bloques para las etapas 1 y 2 de lactancia. Para la etapa 3 todas las vacas fueron evaluadas en un solo grupo.

El modelo experimental consistió en un diseño en cuadrados latinos de 2x2 en tres etapas de lactancia: Etapa 1 (14-21 días post parto al inicio del periodo); Etapa 2 (53-73 días post parto al inicio del periodo); y Etapa 3 (150-170 días post parto al inicio del periodo). Los tratamientos consisten en infusiones ruminales continuas a través de la cánula ruminal de un control (10 mol/día de Cloruro de Sodio) o acetato (10 mol/día de Acetato de Sodio).

Cabe mencionar que, en la etapa de lactancia Etapa 1 se contó con una muestra de seis vacas debido a que dos de las cuales estaban consideradas para el ensayo tuvieron que ser reemplazadas por motivos de salud y bienestar animal, quedando sus reemplazos disponibles a partir de la etapa de lactancia Etapa 2.

Al comienzo de cada etapa, las vacas tuvieron una fase de adaptación a la dieta por 21 días en un sector de corrales colectivos. Posteriormente, las vacas fueron asignadas aleatoriamente a una de dos secuencias de tratamientos. Cada ciclo incluyó un primer periodo de tratamiento de 5 días, seguido de 7 días de descanso y finalmente un segundo periodo de tratamiento de 5 días. Dos días previos al comienzo y hasta el último día de tratamiento de cada periodo, las vacas fueron alojadas en la Unidad de Digestión y Metabolismo que cuenta con 8 unidades tie-stall individuales que permiten medición de consumo individual y otras variables.

Se preparó una ración totalmente mezclada (TMR) balanceada para cumplir con los requerimientos de acuerdo con lo señalado por *National Research Council, USA (NRC)* en su edición del año 2001 para vacas en lactancia [32% Fibra Detergente Neutro (FDN), 17% Proteína Cruda (PC), 26% Almidón, 3% Extracto Etéreo (EE)], con una relación forraje-concentrado 50:50 (formulado con ensilaje de pradera, afrecho de canola, harina de soya, maíz molido y una mezcla de vitaminas y minerales).

Las vacas fueron alimentadas *ad libitum* (110% del consumo esperado), para lo cual se midió el rechazo en forma diaria para determinar el consumo individual. La materia seca de la dieta TMR y sus componentes (forraje y materias primas) fueron determinados dos veces a la semana para ajustar la mezcla de los ingredientes en la dieta formulada (72 horas en un horno de aire forzado a 55°C). Al final del ensayo, las muestras de forrajes y materias primas fueron compuestas por etapa y bloque para análisis de composición nutricional (Fibra detergente neutro, proteína cruda, fibra detergente ácido, almidón, extracto etéreo) acorde a los métodos oficiales AOAC, en el Laboratorio de Bromatología de INIA Remehue.

Para la fabricación de las soluciones de tratamientos, la solución de acetato de sodio fue preparada mezclando en agua: ácido acético glacial, hidróxido de sodio, y luego el pH fue ajustado a 6,4 utilizando una solución de HCl:H₂O de 1:10. La solución de cloruro de sodio fue preparada diluyendo sal común (NaCl) en agua y ajustando el pH a 6,4 con ácido clorhídrico (HCl).

Las soluciones de tratamiento fueron suministradas a las vacas durante 5 días, las 24 horas del día a través de líneas de infusión ruminal, las que fueron instaladas en el rumen el primer día de tratamiento, y conectadas a una bomba de infusión peristáltica. El correcto funcionamiento de las bombas peristálticas, la integridad de las líneas de infusión ruminal y el registro de la cantidad infundida fue corroborado en forma periódica.

Las vacas fueron ordeñadas dos veces al día durante todo el ensayo, y durante los periodos de tratamiento intraruminal, en la Unidad de Digestión y Metabolismo la ordeña se realizó con un equipo portátil de ordeña (7:30 AM y 17:30 PM). Se tomaron muestras de leche en cada ordeña en un vial de plástico con un preservante (Bronopol). Además, con el objetivo de incluirlas como covariables, se midió la producción y composición de la leche un día previo al inicio de los tratamientos, las cuales se incorporaron al modelo según la variable dependiente estudiada. Las muestras fueron almacenadas a 4°C y enviadas para análisis de contenido de grasa y proteína mediante método NIRS (laboratorio de calidad de leche, Cooprinsem).

Análisis estadístico

Las variables dependientes (consumo de materia seca, producción y composición de leche) fueron analizadas utilizando el procedimiento MIXED del software SAS. El modelo mixto considera como efectos fijos el bloque, tratamiento, día de observación, etapa de lactancia e interacciones; y como efectos aleatorios, el periodo, y la vaca. Cabe mencionar que, se

utilizó como covariable la medición de consumo de materia seca, producción y composición de la leche del día anterior a los tratamientos, acorde a la variable dependiente analizada. Adicionalmente, se realizó un ANOVA a la covariable (día 0) para verificar si existían diferencias significativas previo al inicio de los tratamientos. Por otra parte, cada vaca fue considerada la unidad donde se realizan medidas repetidas en el tiempo.

Las observaciones con residuales estudentizados fuera de $\pm 3,5$ desviaciones estándar, fueron considerados valores atípicos y por lo tanto se excluyeron del análisis estadístico. El efecto de los tratamientos fue significativo con un $P \leq 0,05$. El efecto de las interacciones fue significativo con un $P \leq 0,1$.

El modelo se detalla a continuación:

$$Y_{ghijklm} = \mu + C_g + B_h + T_i + D_j + E_k + (TE)_{ij} + (TD)_{ik} + (TED)_{ijk} + P_l + V_m + e_{ghijklm}$$

Donde:

$Y_{ghijklm}$ = Variable respuesta

μ = Media general

C_g = Efecto fijo de la covariable ($g=1$)

B_h = Efecto fijo del bloque ($h= 1$ a 3)

T_i = Efecto fijo del tratamiento ($i=$ Control o Acetato)

D_j = Efecto fijo del día de observación ($j = 1$ a 5)

E_k = Efecto fijo de la etapa de lactancia ($k =$ Etapa 1, Etapa 2, Etapa 3)

$(TE)_{ij}$ = Interacción tratamiento y etapa de lactancia

$(TD)_{ik}$ = Interacción tratamiento y día de observación

$(TED)_{ijk}$ = Interacción tratamiento, etapa de lactancia y día de observación

P_l = Efecto aleatorio del periodo ($l = 1$ y 2)

V_m = Efecto aleatorio de la vaca ($m = 8$)

$e_{ghijklm}$ = Error experimental

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el cuadro 1 se observa que, hubo un efecto significativo del tratamiento en todas las variables analizadas, exceptuando el consumo de materia seca. Por otra parte, la etapa de lactancia tuvo un efecto significativo en el consumo de materia seca, contenido de grasa, y contenido de proteína. Respecto a la interacción de ambos (tratamiento y etapa) fue significativa en la producción y contenido de grasa, y producción de proteína.

Cuadro 1. Medias de mínimos cuadrados, según tratamiento y etapa de lactancia

Variable	Etapa de lactancia						EE ¹	<i>P</i>		
	Etapa 1		Etapa 2		Etapa 3			Tto ²	Etapa	T x E ³
	Control	Acetato	Control	Acetato	Control	Acetato				
Producción de Leche (kg día ⁻¹)	25,8	24,1	24,3	23,5	24,5	24,0	0,54	0,004	0,07	0,32
Consumo de materia seca (kg día ⁻¹)	20,2	19,3	21,7	20,6	25,2	24,8	1,07	0,14	<0,001	0,78
Producción de grasa (kg día ⁻¹)	0,61	0,73	0,62	0,69	0,72	0,72	0,03	0,003	0,04	0,04
Contenido de grasa (%)	2,40	2,95	2,60	2,96	3,06	3,10	0,14	<0,001	<0,001	0,03
Producción de proteína (kg día ⁻¹)	0,84	0,75	0,79	0,77	0,85	0,81	0,01	<0,001	0,05	0,07
Contenido de proteína (%)	3,30	3,19	3,29	3,28	3,41	3,46	0,03	0,007	<0,001	0,16

¹ Error Estándar

² Tratamiento

³ Interacción Tratamiento y Etapa

Producción de leche

Existen diferencias estadísticamente significativas ($P=0,004$) entre los tratamientos, siendo el tratamiento control el que presenta una mayor producción de leche respecto al tratamiento acetato ($1,03 \text{ kg día}^{-1}$) en promedio durante las tres etapas de lactancia estudiadas. Esto último se condice con los resultados de otros estudios, Gualdrón y Allen, (2018) reportaron una disminución de 15% (13.2 kg vs. 15.5 kg) en la producción de leche 12 horas después de infundir acetato de sodio en el rumen, comparado con un control (cloruro de sodio). Maxin *et al.* (2011) afirman que hubo una disminución de $2,3 \text{ kg día}^{-1}$ al infundir acetato en el rumen, comparado con un control (cloruro de sodio). Sin embargo, existen estudios en los cuales no se encontraron diferencias significativas al infundir acetato en el rumen respecto al control (Urrutia y Harvatine, 2017; Urrutia *et al.*, 2019).

Esto resulta interesante, puesto que los estudios donde se menciona una disminución en la producción de leche al infundir acetato a su vez presentan disminución en el consumo de materia seca, lo cual no es el caso de este trabajo. En consecuencia, es posible que la causa de esta diferencia pueda estar dada por una disminución en el consumo de agua de las vacas u otra razón, que no es posible determinar con los datos disponibles en este trabajo.

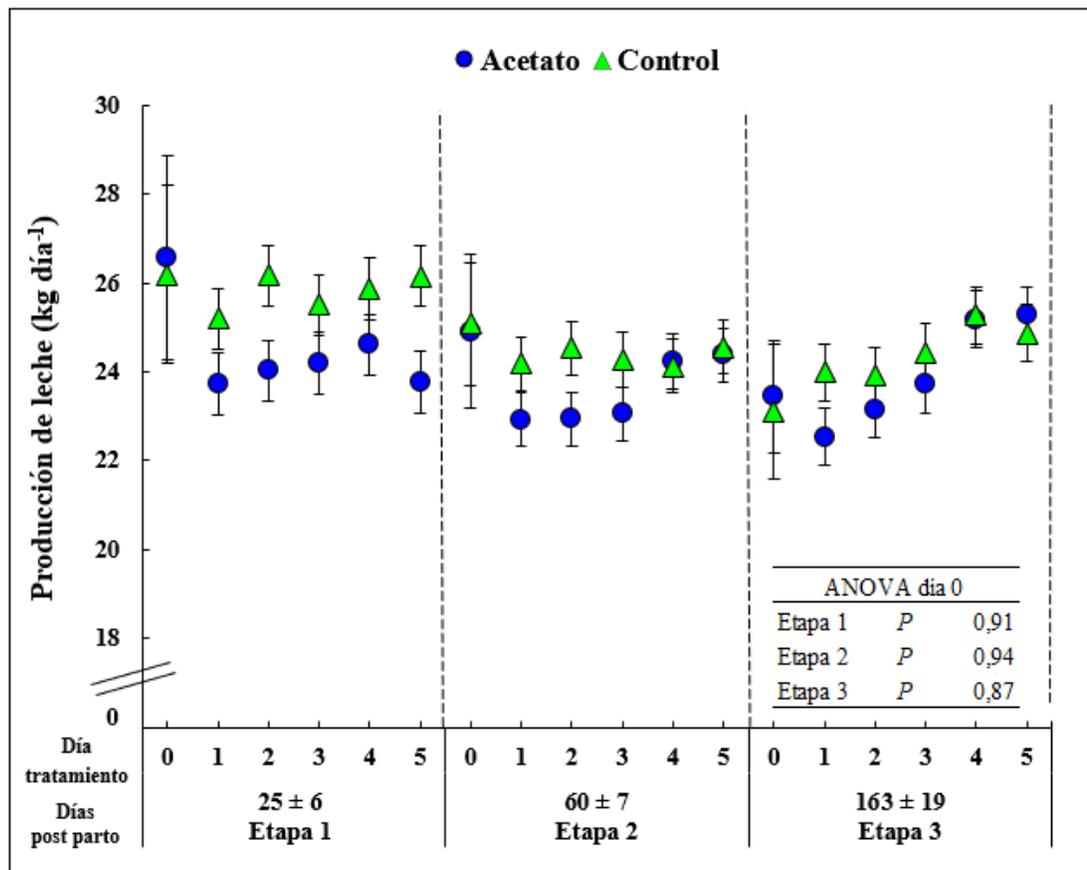


Figura q. Producción de leche (kg día^{-1}), según día, tratamiento y etapa de lactancia. Valores corresponden a medias de mínimos cuadrados y error estándar.

Consumo de materia seca

No existe un efecto significativo de los tratamientos ($P > 0,05$) en cuanto al consumo de materia seca. Esto es similar a lo observado por Gualdrón y Allen (2018), quienes afirman que no hubo una reducción del consumo de materia seca al infundir acetato al rumen. Por el contrario, Urrutia *et al.* (2019), observaron un incremento en el consumo de materia seca de $2,5 \text{ kg día}^{-1}$ con un tratamiento de acetato de sodio mezclado en la dieta TMR (10 mol/día/vaca).

Al analizar el aporte del acetato suministrado en el consumo de materia seca, Ghimireque *et al.* (2014) afirma que por cada kilogramo de materia seca consumida al día se producen 2,8 mol de acetato, por lo tanto en este caso, una vaca sometida al tratamiento control tendría que aumentar su consumo en $4,5 \text{ kg MS/día}$ para equiparar la producción de acetato respecto al tratamiento con la infusión de acetato de sodio.

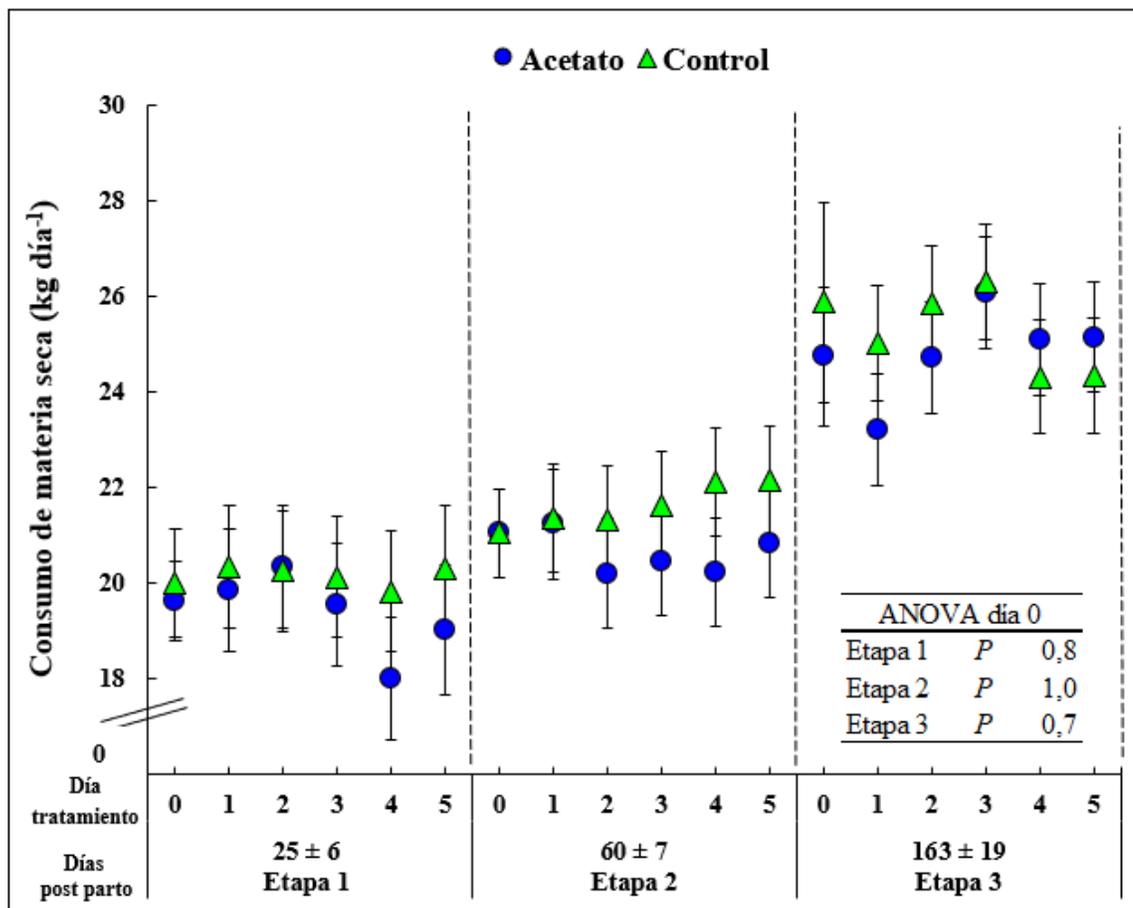


Figura 1. Consumo de materia seca (kg día^{-1}) según día, tratamiento y etapa de lactancia. Valores corresponden a medias de mínimos cuadrados y error estándar.

Producción de grasa

Hubo efectos significativos de la etapa de lactancia, tratamiento y su interacción en la producción de grasa láctea. El tratamiento acetato aumentó la producción de grasa ($0,06 \text{ kg día}^{-1}$) con respecto al control. Cabe destacar según la interacción observada que esta diferencia es significativa en la Etapa 1 ($P=0,002$) y Etapa 2 ($P=0,05$), existiendo un incremento de $0,12$ y $0,07 \text{ kg día}^{-1}$, respectivamente (Figura 3). Estos resultados coinciden con otros estudios, donde se ha visto un incremento de $0,09 \text{ kg día}^{-1}$ al suministrar acetato de sodio en la dieta (Urrutia *et al.*, 2019).

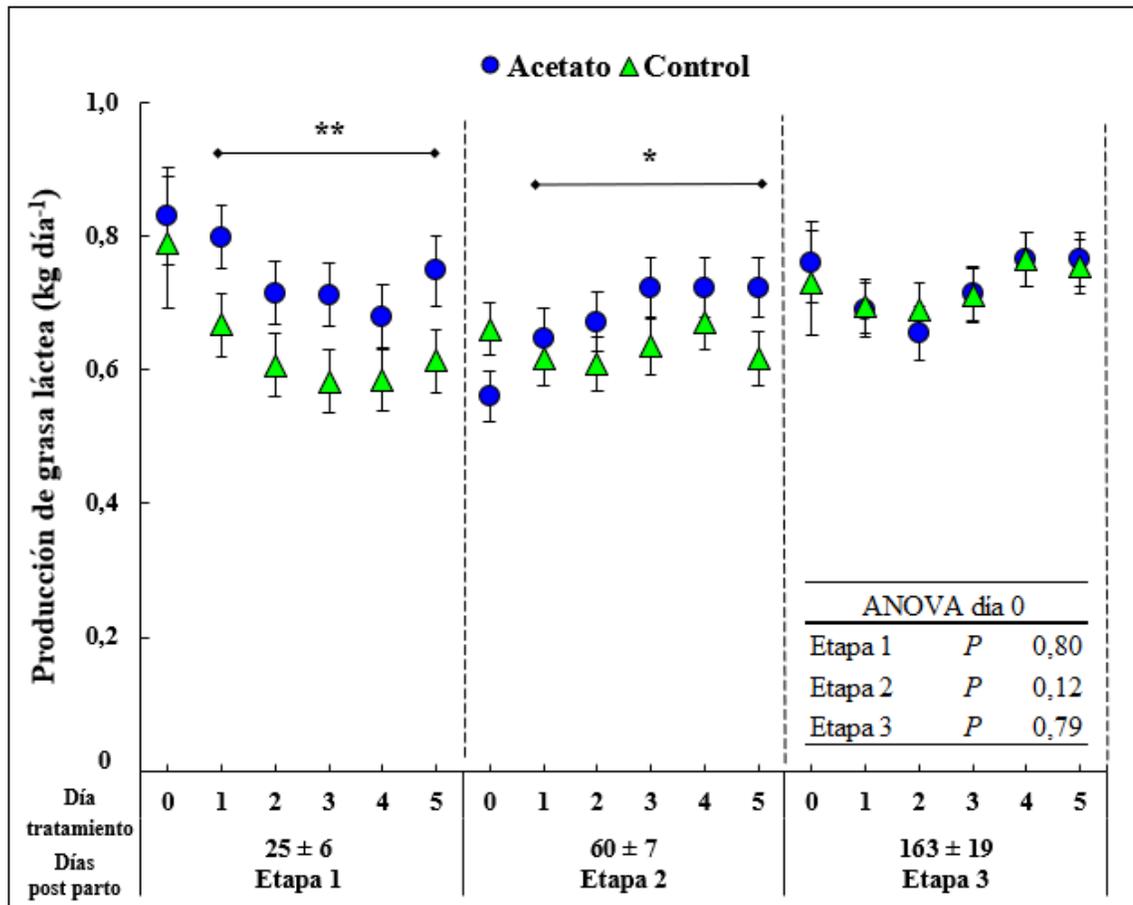


Figura 2. Producción de grasa láctea (kg) según día y etapa de lactancia. Valores corresponden a medias de mínimos cuadrados y error estándar. Asteriscos indican donde hubo un efecto significativo de la interacción Tratamiento y Etapa: *: $P<0,05$; **: $P<0,01$; ***: $P<0,001$.

Contenido de grasa

En relación con el contenido de grasa, se obtuvieron valores bajos en ambos tratamientos, evidenciando una posible depresión de grasa láctea. Esta condición se debe principalmente a dietas bajas en forraje y alto concentrado, y deriva en una alteración en el proceso fermentativo a nivel ruminal con un cambio en el pH del rumen, como consecuencia se produce una depresión en la digestión de la fibra y por ende un cambio en los productos de fermentación ruminal, disminuyendo el sustrato disponible para la síntesis de grasa a nivel de la glándula mamaria (Morales, 1999). Además, la reducción del pH ruminal provoca una biohidrogenación incompleta de las grasas insaturadas, que conlleva a una absorción de ácidos grasos de cadena larga en configuración trans a diferencia de los sintetizados en la glándula mamaria que son cis, por lo que tienen un efecto inhibitorio directo de la síntesis de ácidos grasos (Manterola, 2011).

En el presente estudio se alimentó en base a una dieta balanceada según los requerimientos específicos para vacas lactantes, como fue descrito en la metodología. Sin embargo, a pesar de que se siguieron estrictamente los protocolos de formulación de la dieta, no se contaba con el equipamiento necesario para componer una ración totalmente mezclada, ya sea un carro mezclador u otro equipo para estos fines. En la práctica, se compuso una ración por capas con un mezclado superficial con horquetas, por lo que los insumos concentrados no se distribuyeron uniformemente en el comedero, permitiendo que las vacas seleccionaran el concentrado en desmedro del forraje.

Hubo un efecto significativo del tratamiento, etapa y su interacción en la concentración de grasa láctea. El tratamiento acetato presenta una mayor concentración de grasa láctea (0,32%) respecto al control. La interacción presenta diferencias significativas en la Etapa 1 y Etapa 2, presentando un contenido de grasa superior de 0,56 y 0,36 % respectivamente, al contrastarlo con el control (Figura 4).

Lo anterior, es similar a lo concluido por Maxin *et al.* (2011) quienes afirman haber observado una diferencia de 0,5% en el contenido de grasa láctea al realizar infusiones ruminales de acetato respecto del control. Por otra parte, Urrutia *et al.* (2019) también reportaron un incremento de 0,2% en el contenido de grasa en el tratamiento acetato comparado con el control.

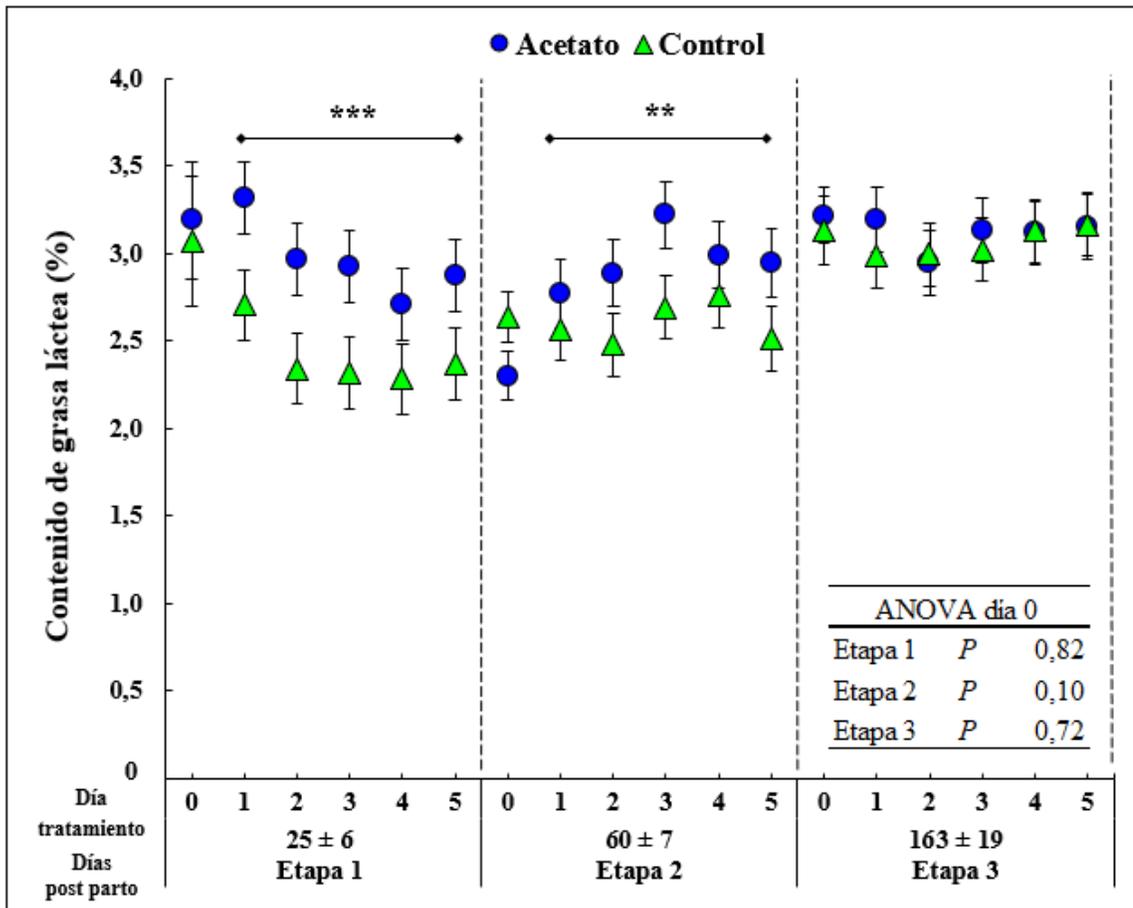


Figura 3. Contenido de grasa láctea (%) según día y etapa de lactancia. Valores corresponden a medias de mínimos cuadrados y error estándar. Asteriscos indican donde hubo un efecto significativo de la interacción Tratamiento y Etapa: *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$; ***: $P < 0,001$.

Producción de proteína

Hubo un efecto significativo de tratamiento, etapa y su interacción en la producción de proteína. En este sentido, el tratamiento control obtuvo una mayor producción de proteína ($0,04 \text{ kg día}^{-1}$), respecto del tratamiento acetato. La interacción presenta diferencias significativas en la Etapa 1 y Etapa 3, observándose que el tratamiento control tiene una producción de proteína superior de $0,08$ y $0,03 \text{ (kg día}^{-1}\text{)}$, respectivamente (Figura 5).

Esta respuesta podría ser a causa de un déficit de nutrientes disponible al inicio de la lactancia, ya que las vacas aún no logran consumir lo necesario para cubrir sus requerimientos, por lo que el acetato pudo haber estimulado la síntesis de grasa en desmedro de la producción de proteína y producción de leche. Posteriormente conforme avanza la lactancia, las vacas aumentan su consumo de materia seca y continúan sin gestar, lo cual permite cubrir mejor sus requerimientos, en consecuencia, no se observa una diferencia significativa en la interacción durante la etapa 2. Sin embargo, en la etapa 3 con vacas ya gestantes se vuelve a observar una diferencia en la interacción, posiblemente por una mayor demanda para cubrir los requerimientos del desarrollo de esta nueva gestación.

Estos resultados se asemejan a lo observado por Maxin *et al.* (2011), donde las infusiones con acetato disminuyeron la producción de proteína en 93 g día^{-1} respecto al control. Lo mismo afirman Gualdrón y Allen (2018), cuyos resultados indican que el tratamiento con acetato tuvo una disminución de 14% comparado con el control ($0,36$ vs. $0,42 \text{ kg}$), en la producción de proteína, en las muestras de leche a.m. (12 horas post-infusion). Por otra parte, otros estudios afirman que el acetato no afectó la producción de proteína (Urrutia y Harvatine, 2017). También existen reportes de aumento en la producción de 79 g día^{-1} (Urrutia *et al.*, 2019).

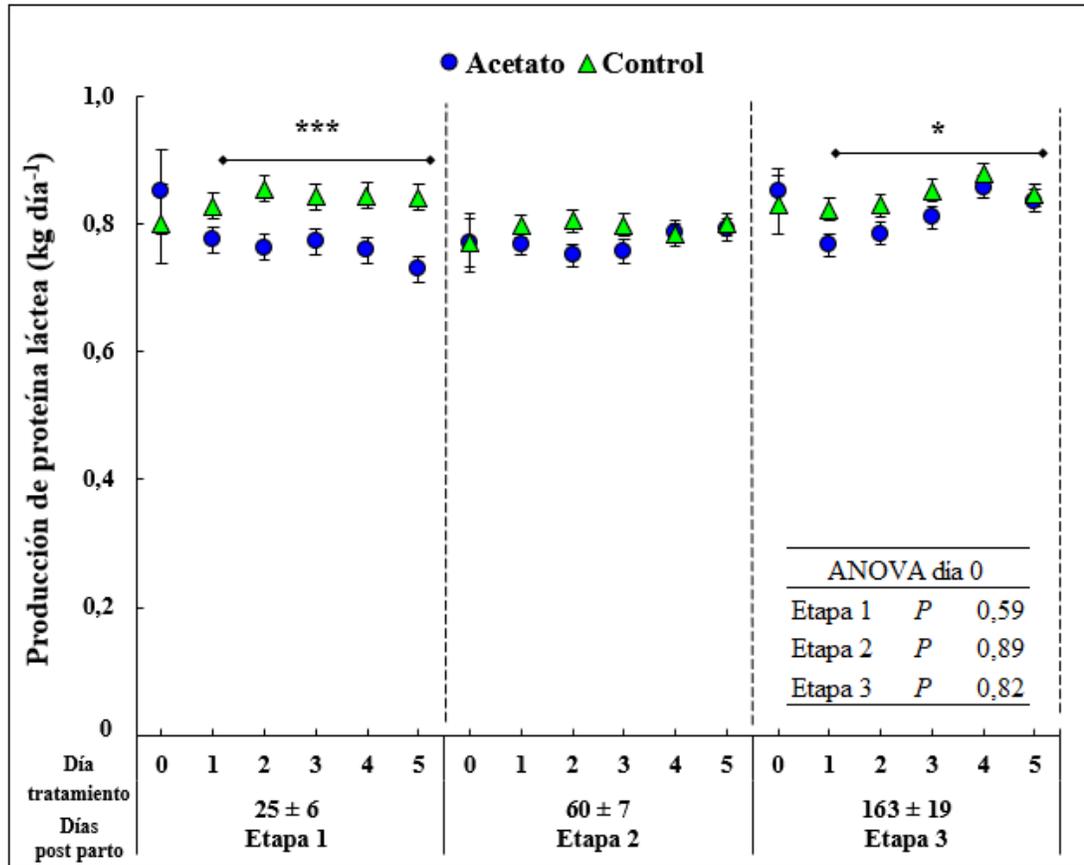


Figura 4. Producción de proteína láctea (kg) según día y etapa de lactancia. Valores corresponden a medias de mínimos cuadrados y error estándar. Asteriscos indican donde hubo un efecto significativo de la interacción Tratamiento y Etapa: *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$; ***: $P < 0,001$.

Contenido de proteína

Hubo un efecto significativo del tratamiento en el contenido de proteína láctea. Se observó un mayor contenido de proteína en el tratamiento control (0,06%) en promedio respecto al tratamiento acetato. Estos resultados contrastan con lo observado por Maxin *et al.* (2011), y también Gualdrón y Allen (2018), que no encontraron diferencias significativas en el contenido de proteína por parte de los tratamientos con acetato.

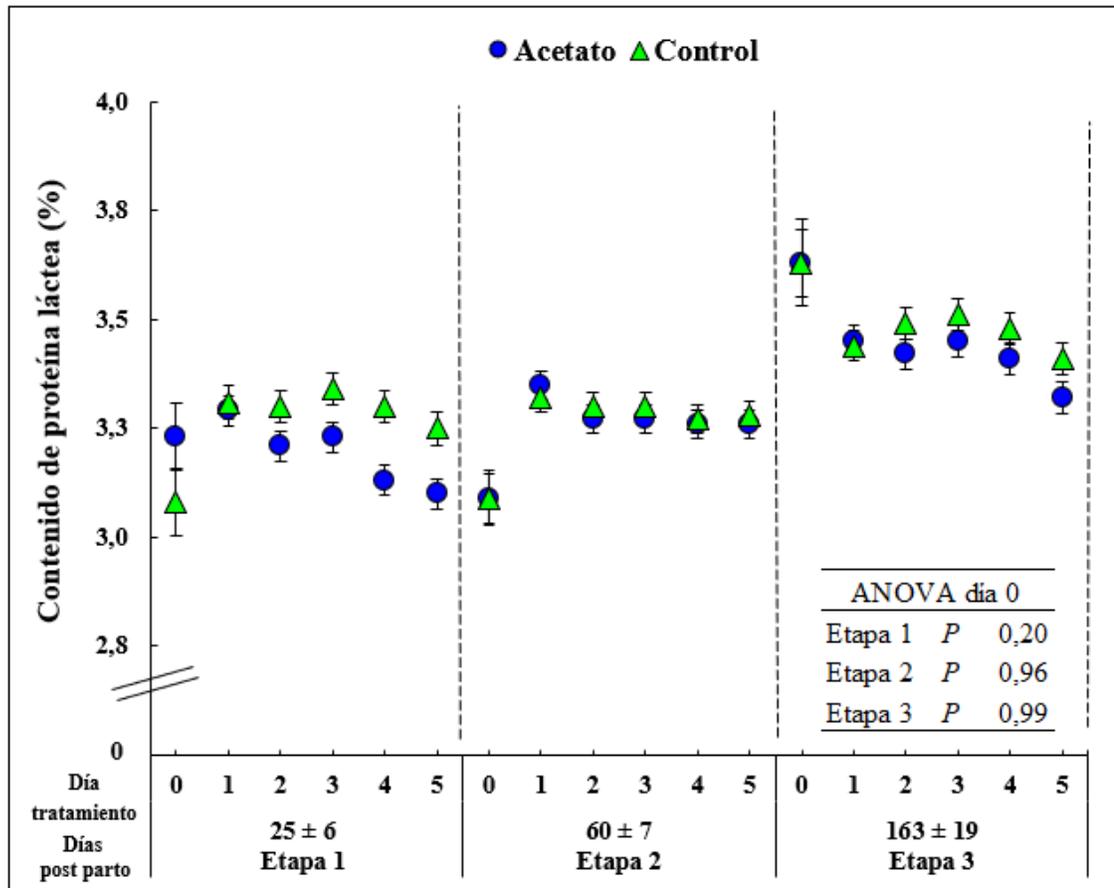


Figura 5. Contenido de proteína (%) según día y etapa de lactancia. Valores corresponden a medias de mínimos cuadrados y error estándar.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio permiten concluir que:

- La infusión de acetato de sodio en la dosis suministrada, a pesar de no evidenciar cambios en el consumo de materia seca disminuye la producción de leche a lo largo de toda la lactancia. En consecuencia, dado que no existe una explicación clara para esta diferencia con los datos disponibles, se deben considerar otras variables en ensayos a futuro que permitan dilucidar las causas de este efecto.
- Este tratamiento puede ser una herramienta útil a futuro para aumentar la producción y contenido de grasa rápidamente, particularmente en las primeras etapas de la lactancia donde existan fenómenos como la depresión de grasa láctea, donde el tiempo que demora en revertirse la situación representa un problema importante.
- La producción y concentración de proteína es afectada negativamente con la infusión de acetato de sodio, principalmente al inicio y final de las etapas de lactancia estudiadas, lo que también es un efecto indeseado para el sistema productivo, dado que es una fracción importante en las pautas de pago a los productores.
- Resulta oportuno pensar en un estudio que abarque la lactancia en su totalidad, para analizar los efectos de este tratamiento especialmente hacia el final de esta, donde se producen cambios notorios en las vacas.

BIBLIOGRAFÍA

- Carrillo, B. y Vidal, C. 2001. Calidad higiénica de leche. Resultados técnicos y económicos de centros de acopio lecheros del cege – paillaco. *Agroeconómico/fundación chile*. 64: 46-50.
- Church, D.C. 1980. Digestive physiology and nutrition of ruminants. Volume 3. Second Edition. Corville: O & B Bks.
- Dairy NZ. 2020. Economic Values. February 2020 Economic Value Update. Disponible en: <https://www.dairynz.co.nz/animal/animal-evaluation/interpreting-the-info/economic-values/>
- Delgadillo J. González-Verdugo H. Uribe H. 2016. Genetic-economic comparison of New Zealand Holstein and Jersey-New Zealand Holstein cross under a pastoral scheme in southern Chile. *Arch Med Vet* 48. 261-267.
- S. Ghimire, P. Gregorini, M.D. Hanigan. 2014. Evaluation of predictions of volatile fatty acid production rates by the Molly cow model. *Journal of Dairy Science*. 97 (1). <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6199>.
- Gualdrón-Duarte, L. B., y Allen, M. S. 2018. Effects of acetic acid or sodium acetate infused into the rumen or abomasum on feeding behavior and metabolic response of cows in the postpartum period. *Journal of Dairy Science*. 101(3). 2016–2026. doi:10.3168/jds.2017-13609
- Holmes, C. 2002. Milk production from pasture. Palmerston North. N.Z.: Massey University.
- LIC (Livestock Improvement). 2019. Breeding Worth and Economic Values. Disponible en: <https://licnz.com/about/new-zealand-animal-evaluation/>
- Manterola, H. 2010. Manejo nutricional y composición de la leche. El desafío de incrementar los sólidos totales en la leche. Una necesidad de corto plazo. Disponible en: http://www.uchile.cl/documentos/nutricion-del-rebano-lecheropara-la-produccion-de-solidos_58311_5.pdf
- Manterola, H. 2011. Estrategias nutricionales y alimenticias para modificar los sólidos totales de la leche. Circular de extensión. Departamento de producción Animal. Universidad de Chile. Disponible en: https://www.uchile.cl/documentos/estrategias-nutricionales-y-alimenticias-para-modificar-los-solidos-totales-de-la-leche_58311_22_5339.pdf
- Maxin, G., H. Rulquin, y F. Glasser. 2011. Response of milk fat concentration and yield to

nutrient supply in dairy cows. *Animal* 5(08):1299-1310

Maxin, G., F. Glasser, C. Hurtaud, J. L. Peyraud, y H. Rulquin. 2011. Combined effects of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid, propionate, and acetate on milk fat yield and composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94 :2051–2059

Morales, M. 1999. Factores que afectan la composición de la leche. Disponible en: <https://revistaderechopublico.uchile.cl/index.php/RT/article/view/5224>

NRC (National Research Council). 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition*. 2001. Washington. DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/9825>.

ODT (Otago Daily Times). 2018. Milk fat now worth more to farmers than protein. Disponible en: <https://www.odt.co.nz/rural-life/dairy/milk-fat-now-worth-more-farmers-protein>

Schmidt, G. 1971. *Biology of lactation*. San Francisco. W.H. Freeman and Company.

Uribe H., González H., y Gatica C. 2017. Genetic parameter estimation to milk yield and fat and protein yield deviated from 3% of concentration in milk in dairy herds of southern Chile. *Austral Journal of Veterinary Science* 49. 71-76 (2017)

Urrutia y Harvatine. 2017. Acetate Dose-Dependently Stimulates Milk Fat Synthesis in Lactating Dairy Cows. *The Journal of Nutrition*. *J. Nutr.* doi: 10.3945/jn.116.245001

Urrutia, N., R. Bomberger, C. Matamoros, y K. J. Harvatine. 2019. Effect of dietary supplementation of sodium acetate and calcium butyrate on milk fat synthesis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 102:1–10 <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16024>

UW (University of Wisconsin, USA). 2020. *Dairy Marketing and Risk Management*. Dairy Marketing Tools. Dairy Revenue Protection. Disponible en: <https://dairy.aae.wisc.edu/dairy-marketing-tools/DRP/>

Vargas, G. 2000. *Economía y gestión de la producción lechera*. Departamento agroindustrial. Fundación Chile. Santiago, Chile. 67 p.

APÉNDICE

Apéndice I. Código base SAS

```

proc mixed data=work.import order=data;
    class vaca bloque periodo etapa dia tratamiento;
    model Y=covariable Y bloque etapa dia tratamiento etapa*tratamiento
dia*tratamiento etapa*dia*tratamiento / outp=a residual ddfm=kr;
    random vaca periodo;
    repeated dia / subject=vaca*tratamiento*etapa type=ar(1);
    lsmeans etapa dia tratamiento etapa*tratamiento dia*tratamiento
etapa*dia*tratamiento/ diff;
run;

/*Eliminar outlier1*/
data outlier1;
    set a;
    if studentresid>3.5 then
        delete;
    else if studentresid<-3.5 then
        delete;
run;

proc mixed data=outlier1;
    class vaca bloque etapa periodo dia tratamiento;
    model Y=covariable Y bloque etapa dia tratamiento etapa*tratamiento
dia*tratamiento etapa*dia*tratamiento / outp=b residual ddfm=kr;
    random vaca periodo;
    repeated dia / subject=vaca*tratamiento*etapa type=ar(1);
    lsmeans etapa dia tratamiento etapa*tratamiento dia*tratamiento
etapa*dia*tratamiento/diff;
run;

/*Eliminar outlier2*/
data outlier2;
    set b;
    if studentresid>3.5 then
        delete;
    else if studentresid<-3.5 then
        delete;
run;

proc mixed data=outlier2;

```

```

class vaca etapa periodo dia tratamiento;
model Y=covariable Y etapa dia tratamiento etapa*tratamiento dia*tratamiento
etapa*dia*tratamiento / outp=c residual ddfm=kr;
random vaca periodo;
repeated dia / subject=vaca*tratamiento*etapa type=ar(1);
lsmeans etapa dia tratamiento etapa*tratamiento dia*tratamiento
etapa*dia*tratamiento/diff;
run;

```

```

/*Eliminar outlier3*/
data outlier3;
set c;
if studentresid>3.5 then
delete;
else if studentresid<-3.5 then
delete;
run;

```

```

proc mixed data=outlier3 order=data;
class vaca bloque etapa periodo dia tratamiento;
model Y=covariable Y bloque etapa dia tratamiento etapa*tratamiento
dia*tratamiento etapa*dia*tratamiento/ residual ddfm=kr;
random vaca periodo;
repeated dia / subject=vaca*tratamiento*etapa type=ar(1);
lsmeans etapa dia tratamiento etapa*tratamiento dia*tratamiento
etapa*dia*tratamiento/diff;
run;

```

```

proc means data=work.outlier3 maxdec=1;
var Y;
class vaca etapa tratamiento /order=data;

```

Apéndice II . Test de tipo 3 de efectos fijos producción de leche

Efecto	DF	Valor F	Pr > F
Covariable	1	48,78	<0,001
Etapas	2	2,89	0,07
Día	4	5,85	<0,001
Tratamiento	1	10,78	0,004
Etapas × Tratamiento	2	1,20	0,32
Día × Tratamiento	4	1,41	0,23
Etapas × Día × Tratamiento	16	1,23	0,25

Apéndice III. Medias de mínimos cuadrados producción de leche (kg día⁻¹)

Efecto		Estimación	Error estándar
Etapas	Etapas 1	24,9 ^a	0,49
	Etapas 2	23,9 ^b	0,44
	Etapas 3	24,2 ^{ab}	0,47
Tratamiento	Control	24,9 ^a	0,42
	Acetato	23,8 ^b	0,42

Apéndice IV . Promedios de producción de leche (kg)

Vaca	Tratamiento	Etapas de lactancia					
		Etapas 1		Etapas 2		Etapas 3	
2206	Control	35,3	± 1	31,1	± 0,3	28,3	± 1
	Acetato	33,2	± 1	28,3	± 2,5	25,6	± 3,1
2322	Control	ND		18,9	± 0,5	18,1	± 1,2
	Acetato	ND		19	± 0,5	19,3	± 0,8
5152	Control	21,3	± 0,8	21	± 1,4	17,4	± 0,5
	Acetato	19,5	± 0,4	16,8	± 0,8	18,6	± 1
5479	Control	ND		26,4	± 1	27,1	± 0,4
	Acetato	ND		26,3	± 0,9	24,3	± 1,9
5597	Control	23,4	± 1,2	22	± 0,2	19,8	± 1,2
	Acetato	22,8	± 0,8	21,2	± 1,4	21,6	± 0,2
5764	Control	31	± 1,3	26,6	± 2,5	26,3	± 1
	Acetato	24,1	± 1,5	27,3	± 2	29,9	± 1,3

6347	Control	26,4	± 0,5	25 ± 0,7	25,2 ± 0,6
	Acetato	28,2	± 0,9	25,7 ± 1,2	22,6 ± 2
9892	Control	24,1	± 0,5	24,8 ± 1	23,4 ± 0,7
	Acetato	25,3	± 0,7	23,8 ± 1,5	21,5 ± 1,5

Apéndice V. Test de tipo 3 de efectos fijos consumo de materia seca (kg día⁻¹)

Efecto	DF	Valor F	Pr > F
Covariable	1	236,46	<0,0001
Bloque	2	0,90	0,4577
Etapa	2	1,55	0,2268
Día	4	2,08	0,0861
Tratamiento	1	0,45	0,5096
Etapa × Tratamiento	2	0,46	0,6360
Día × Tratamiento	4	0,11	0,9771
Etapa × Día × Tratamiento	16	1,42	0,1408

Apéndice VI. Media de mínimos cuadrados consumo de materia seca

Efecto		Estimación	Error estándar	
Etapa	Etapa 1	19,75 ^a	1,02	
	Etapa 2	21,14 ^b	0,93	
	Etapa 3	25,00 ^c	0,98	
Tratamiento	Control	21,58 ^a	0,90	
	Acetato	22,34 ^a	0,90	
Etapa × Tratamiento	Etapa 1	Control	19,34 ^a	1,13
		Acetato	20,16 ^a	1,12
	Etapa 2	Control	20,58 ^a	1,02
		Acetato	21,70 ^a	1,02
	Etapa 3	Control	24,83 ^a	1,04
		Acetato	25,16 ^a	1,08

Apéndice VII . Promedios de consumo de materia seca (kg día⁻¹)

Vaca	Tratamiento	Etapa de lactancia			
		Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3	
2206	Acetato	22,8	± 3,9	25,9 ± 1	28,9 ± 2,9
	Control	24,7	± 1	26,3 ± 0,7	31,8 ± 1,9
2322	Acetato	ND		17,3 ± 0,9	21,9 ± 0,6

	Control	ND		20,1 ± 2,4	23,2 ± 2,2
5152	Acetato	16 ± 1,2		16,5 ± 0,8	24,2 ± 2,1
	Control	14,4 ± 1,0		19,2 ± 1,1	23 ± 2,6
5479	Acetato	ND		19 ± 2	27,6 ± 2,6
	Control	ND		22,5 ± 1,3	29,6 ± 1,4
5597	Acetato	17,4 ± 1,8		18,5 ± 0,9	21,2 ± 1,2
	Control	16,1 ± 0,7		18,2 ± 2	23,6 ± 2,4
5764	Acetato	19,2 ± 1,1		20,5 ± 1,5	29,4 ± 2,5
	Control	23,5 ± 1,3		21,7 ± 1,1	27,6 ± 3,3
6347	Acetato	14,1 ± 0,6		21,8 ± 0,8	26,4 ± 3,6
	Control	18,9 ± 1,3		22,2 ± 1,3	25,3 ± 2,5
9892	Acetato	16,1 ± 0,5		23 ± 1,4	24,6 ± 1,9
	Control	17,8 ± 0,6		21,3 ± 1,4	24,9 ± 1,5

Apéndice VIII. Test de tipo 3 de efectos fijos producción de grasa

Efecto	DF	Valor F	Pr > F
Covariable	1	12,87	0,008
Bloque	2	1,98	0,23
Etapa	2	3,35	0,045
Día	4	1,48	0,21
Tratamiento	1	9,93	0,003
Etapa × Tratamiento	2	3,50	0,04
Día × Tratamiento	4	0,51	0,73
Etapa × Día × Tratamiento	16	1,03	0,43

Apéndice IX. Medias de mínimos cuadrados producción de grasa (kg día⁻¹)

Efecto	Estimación	Error estándar
Etapa	Etapa 1	0,67 ^{ab}
	Etapa 2	0,66 ^b
	Etapa 3	0,71 ^a
Tratamiento	Control	0,65 ^b

	Acetato		0,71 ^a	0,02
Etapa × Tratamiento	Etapa 1	Control	0,61 ^b	0,03
		Acetato	0,73 ^a	0,04
	Etapa 2	Control	0,63 ^b	0,03
		Acetato	0,70 ^a	0,03
	Etapa 3	Control	0,72 ^b	0,03
		Acetato	0,72 ^b	0,03

Apéndice X. Promedios de producción de grasa láctea (kg día⁻¹)

Vaca	Tratamiento	Etapa de lactancia								
		Etapa 1			Etapa 2			Etapa 3		
2206	Control	0,8	±	0,0	0,8	±	0,1	1,0	±	0,1
	Acetato	0,9	±	0,1	0,8	±	0,1	1,0	±	0,2
2322	Control	ND			0,5	±	0,0	0,5	±	0,1
	Acetato	ND			0,5	±	0,1	0,6	±	0,1
5152	Control	0,7	±	0,1	0,6	±	0,1	0,7	±	0,0
	Acetato	0,7	±	0,1	0,6	±	0,1	0,8	±	0,1
5479	Control	ND			0,5	±	0,1	0,9	±	0,1
	Acetato	ND			0,6	±	0,1	0,8	±	0,1
5597	Control	0,6	±	0,0	0,6	±	0,1	0,5	±	0,1
	Acetato	0,7	±	0,1	0,6	±	0,0	0,6	±	0,1
5764	Control	0,7	±	0,0	0,6	±	0,0	0,7	±	0,0
	Acetato	0,6	±	0,1	0,7	±	0,1	0,9	±	0,1
6347	Control	0,7	±	0,1	0,6	±	0,1	0,8	±	0,1
	Acetato	0,9	±	0,1	0,6	±	0,1	0,6	±	0,0
9892	Control	0,6	±	0,0	0,6	±	0,0	0,7	±	0,1
	Acetato	1,0	±	0,0	0,7	±	0,1	0,7	±	0,1

Apéndice XI. Test de tipo 3 de efectos fijos contenido de grasa

Efecto	DF	Valor F	Pr > F
Covariable	1	12,86	0,0009
Bloque	2	2,40	0,1799

Etapa	2	9,00	0,0005
Día	4	1,60	0,1780
Tratamiento	1	17,56	0,0001
Etapa × Tratamiento	2	3,67	0,0341
Día × Tratamiento	4	0,53	0,7129
Etapa × Día × Tratamiento	16	1,14	0,3195

Apéndice XII. Media de mínimos cuadrados contenido de grasa (%)

Efecto		Estimación	Error estándar	
Etapa	Etapa 1	2,68 ^a	0,14	
	Etapa 2	2,78 ^a	0,13	
	Etapa 3	3,08 ^b	0,13	
Tratamiento	Control	2,69 ^a	0,12	
	Acetato	3,01 ^b	0,12	
Etapa × Tratamiento	Etapa 1	Control	2,40 ^a	0,15
		Acetato	2,96 ^b	0,16
	Etapa 2	Control	2,60 ^a	0,14
		Acetato	2,96 ^b	0,15
	Etapa 3	Control	3,06 ^a	0,14
		Acetato	3,11 ^a	0,14

Apéndice XIII. Promedios de contenido de grasa láctea (%)

Vaca	Tratamiento	Etapa de lactancia		
		Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
2206	Control	2,2 ± 0,1	2,5 ± 0,3	3,4 ± 0,3
	Acetato	2,6 ± 0,1	2,7 ± 0,3	3,9 ± 0,6
2322	Control	ND	2,8 ± 0,2	2,8 ± 0,2
	Acetato	ND	2,5 ± 0,3	3,3 ± 0,5
5152	Control	3,3 ± 0,7	2,9 ± 0,3	3,9 ± 0,2
	Acetato	3,7 ± 0,4	3,4 ± 0,6	4,1 ± 0,4
5479	Control	ND	2,0 ± 0,2	3,3 ± 0,2

	Acetato	ND		2,2 ± 0,2	3,1 ± 0,4
5597	Control	2,7 ± 0,2		2,9 ± 0,4	2,8 ± 0,3
	Acetato	3,2 ± 0,6		3,0 ± 0,3	2,8 ± 0,5
5764	Control	2,2 ± 0,1		2,3 ± 0,2	2,8 ± 0,1
	Acetato	2,5 ± 0,5		2,5 ± 0,1	3,1 ± 0,3
6347	Control	2,6 ± 0,3		2,3 ± 0,5	3,4 ± 0,3
	Acetato	3,2 ± 0,4		2,5 ± 0,4	2,5 ± 0,2
9892	Control	2,3 ± 0,1		2,5 ± 0,3	3,0 ± 0,4
	Acetato	3,8 ± 0,2		3,1 ± 0,4	3,4 ± 0,3

Apéndice XIV. Test de tipo 3 de efectos fijos producción de proteína

Efecto	DF	Valor F	Pr > F
Covariable	1	134,63	<0,0001
Bloque	2	0,70	0,5737
Etapa	2	6,27	0,0045
Día	4	2,59	0,0391
Tratamiento	1	22,96	<0,0001
Etapa × Tratamiento	2	2,85	0,0720
Día × Tratamiento	4	1,27	0,2832
Etapa × Día × Tratamiento	16	2,09	0,0116

Apéndice XV. Medias de mínimos cuadrados producción de proteína láctea (kg día⁻¹)

Efecto	Estimación	Error estándar	
Etapa	Etapa 1	0,80 ^a	
	Etapa 2	0,78 ^a	
	Etapa 3	0,83 ^b	
Tratamiento	Acetato	0,78 ^a	
	Control	0,83 ^b	
Etapa × Tratamiento	Etapa 1	Acetato	0,76 ^a
		Control	0,84 ^b
	Etapa 2	Acetato	0,77 ^a
		Control	0,80 ^a
	Etapa 3	Acetato	0,81 ^a
		Control	0,85 ^b

Apéndice XVI. Promedios de producción de proteína láctea (kg)

Vaca	Tratamiento	Etapa de lactancia		
		Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
2206	Acetato	1,0 ± 0,0	0,9 ± 0,0	0,9 ± 0,1
	Control	1,1 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,0
2322	Acetato	ND	0,6 ± 0,0	0,8 ± 0,0
	Control	ND	0,6 ± 0,0	0,7 ± 0,0
5152	Acetato	0,6 ± 0,0	0,6 ± 0,0	0,8 ± 0,0
	Control	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,8 ± 0,0
5479	Acetato	ND	0,8 ± 0,0	0,9 ± 0,1
	Control	ND	0,8 ± 0,0	1,0 ± 0,0
5597	Acetato	0,7 ± 0,0	0,6 ± 0,0	0,7 ± 0,0
	Control	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0
5764	Acetato	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,1	1,0 ± 0,0
	Control	0,9 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,9 ± 0,0
6347	Acetato	0,9 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,1
	Control	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,9 ± 0,0
9892	Acetato	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,0
	Control	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,9 ± 0,0

Apéndice XVII. Test de tipo 3 de efectos fijos contenido de proteína (%)

Efecto	DF	Valor F	Pr > F
Covariable	1	177,95	<0,0001
Bloque	2	1,29	0,3519
Etapa	2	10,77	0,0003
Día	4	16,08	<0,0001
Tratamiento	1	8,02	0,0072

Etapa × Tratamiento	2	1,92	0,1592
Día × Tratamiento	4	4,65	0,0014
Etapa × Día × Tratamiento	16	2,38	0,0033

Apéndice XVIII. Media de mínimos cuadrados contenido de proteína (%)

Efecto		Estimación	Error estándar	
Etapa	Etapa 1	3,25 ^a	0,02	
	Etapa 2	3,29 ^a	0,02	
	Etapa 3	3,44 ^b	0,03	
Tratamiento	Control	3,35 ^a	0,02	
	Acetato	3,29 ^b	0,02	
Etapa × Tratamiento	Etapa 1	Control	3,30 ^a	0,03
		Acetato	3,19 ^a	0,03
	Etapa 2	Control	3,29 ^a	0,03
		Acetato	3,28 ^a	0,03
	Etapa 3	Control	3,46 ^a	0,03
		Acetato	3,41 ^a	0,03

Apéndice XIX. Promedios de contenido de proteína láctea (%)

Vaca	Tratamiento	Etapa de lactancia				
		Etapa 1			Etapa 2	Etapa 3
2206	Acetato	3	±	0,1	3,2 ± 0	3,5 ± 0,1
	Control	3,2	±	0	3,1 ± 0	3,8 ± 0,1
2322	Acetato	ND			3,1 ± 0	3,9 ± 0
	Control	ND			3,2 ± 0	4 ± 0,1
5152	Acetato	3,3	±	0,1	3,3 ± 0,1	4,3 ± 0,1
	Control	3,3	±	0	3,3 ± 0,1	4,3 ± 0,1
5479	Acetato	ND			2,9 ± 0,1	3,6 ± 0,1
	Control	ND			3 ± 0	3,6 ± 0
5597	Acetato	3	±	0,1	3 ± 0	3,4 ± 0
	Control	3	±	0,1	3 ± 0,1	3,5 ± 0
5764	Acetato	3,1	±	0,1	3 ± 0	3,5 ± 0,1
	Control	2,9	±	0	2,9 ± 0	3,5 ± 0

	Acetato	3,1	±	0,1	2,9 ± 0,1	3,7 ± 0
6347	Control	3	±	0,1	3,1 ± 0	3,6 ± 0,1
	Acetato	3,3	±	0,1	3,2 ± 0	3,7 ± 0,1
9892	Control	3,2	±	0,1	3,2 ± 0,1	3,7 ± 0,1

Apéndice XX. Protocolo de preparación solución de cloruro de sodio.

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
Standard Operating Procedure (SOP)
Procedimiento Operacional Estándar



Código SOP: <i>Rem Gan xx V1</i>	Remehue <i>CRI</i>	Ganadería <i>(Unidad/Grupo)</i>	xx <i>(SOP No.)</i>	v1 <i>(Versión)</i>
Locación:	Remehue			
Autor:	Natalie Urrutia			
Título:	Preparación de solución de Cloruro de sodio 2M			
Propósito:	Detallar instrucciones para preparar una solución de 20 Lt de Cloruro de sodio en concentración 2M para infusión ruminal en ensayos con vacas lecheras fistuladas.			
Fecha Creación / modificación:	11.09.2019			

Materiales:

Bidón 20 L con llave
 Sal común - cloruro de sodio - NaCl
 Agua de la llave
 Mezclador en pedestal, hélice de acero inoxidable
 Balanza

Instrucciones:

1. Llenar contenedor hasta ~15 L con agua de la llave
2. Pesar y agregar al contenedor:
 2340 g Sal común (NaCl)
3. Mezclar con mezclador en pedestal, hasta disolver
4. Llenar contenedor con agua hasta 20 L
5. Pesar y registrar 3 veces 5 mL de la solución (ver hoja de registro)
6. Medir y registrar pH, anotar en un sticker en el bidón:

NaCl 2M
Fecha:
pH:
Numero de lote correlativo al ensayo:
Iniciales:

Apéndice XXI. Protocolo de preparación solución de acetato de sodio.

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
Standard Operating Procedure (SOP)/
Procedimiento Operacional Estándar



Código SOP: <i>Rem Gan xx V1</i>	Remehue <i>CRI</i>	Ganadería <i>(Unidad/Grupo)</i>	xx <i>(SOP No.)</i>	v1 <i>(Versión)</i>
Locación:	Remehue			
Autor:	Natalie Urrutia			
Título:	Preparación de solución de Acetato de sodio 2M			
Propósito:	Detallar instrucciones para preparar una solución de 20 Lt de Acetato de sodio en concentración 2M para infusión ruminal en ensayos con vacas lecheras fistuladas.			
Fecha Creación / modificación:	11.09.2019			

Materiales:

Bidón 20 L con llave
 Acido acetico glacial (100%)
 Hidroxido de sodio / soda caustica / NaOH
 Agua de la llave
 Mezclador en pedestal, hélice de acero inoxidable
 Balanza
 Lentes, guantes y mascarilla de protección
 Tubo volumetrico 1 L

Instrucciones:

1. Llenar contenedor hasta ~10 L con agua de la llave
2. Pesar y agregar al contenedor:
1536 g Hidroxido de sodio / soda caustica / NaOH
3. Mezclar con mezclador en pedestal, por 5 minutos
4. Medir en tubo volumetrico o pesar en balanza:
2288 mL de ácido acético glacial ó 2404 gr de ácido acético glacial
5. Agregar acido acético al contenedor y mezclar hasta que la solución esté disuelta
6. Llenar contenedor con agua hasta 20 L
7. Pesar y registrar 3 veces 5 mL de la solución (ver hoja de registro)
8. Medir y registrar pH, anotar en un sticker en el bidón:

NaAc 2M
Fecha:
pH:
Numero de lote correlativo al ensayo:

Apéndice XXII. Protocolo de recolección de muestras de leche.

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
Standard Operating Procedure (SOP)/
Procedimiento Operacional Estándar



Código SOP: <i>Rem Gan xx V1</i>	Remehue <i>CRI</i>	Ganadería <i>(Unidad/Grupo)</i>	xx <i>(SOP No.)</i>	v1 <i>(Versión)</i>
Locación:	Remehue			
Autor:	Natalie Urrutia			
Título:	Recolección de muestras de leche en UDM			
Propósito:	Detallar instrucciones para coleccionar muestras de leche a partir de vacas en ensayos en la Unidad de Digestión y Metabolismo.			
Fecha Creación / modificación:	13.09.2019			

Materiales:

Hoja de registro de producción
 Viales con preservante (bronopol)
 Tubos falcon 50 mL
 Tubos almacenaje 2 mL
 Caja o Rack de almacenaje
 Espátula
 Guantes

Instrucciones:

1. Pesar y registrar peso del tarro lechero vacío.
2. Asegurar que el medidor de leche (Waikato) esté conectado correctamente a la unidad de ordeña portátil.
3. Luego de la ordeña completa de cada vaca, vaciar el contenido del Waikato en una botella, e invertir la botella 3 veces de forma suave (no agitar).
4. Vaciar leche al vial con preservante (hasta el límite indicado) y 45 mL al tubo falcon.
5. Vaciar el remanente de leche en la botella al tarro lechero y luego pesar y registrar peso.
6. Viales con preservante pueden almacenarse hasta 72 hrs en refrigerador. Para análisis deben entregarse en laboratorio de Cooprinsem junto con la hoja de registro de muestras llenada.
7. Leche en tubo falcon debe ser refrigerada hasta procesamiento: centrifugar a 3500 x g, 4°C por 20 minutos y transferir capa superior de grasa a tubos de 2 mL, con ayuda de espátulas. Tubos deben almacenarse a -20°C.

Apéndice XXIII. Protocolo de estimación de materia seca en microondas.

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
Standard Operating Procedure (SOP)/
Procedimiento Operacional Estándar



Código SOP: <i>Rem Gan xx V1</i>	Remehue <i>CRI</i>	Ganadería <i>(Unidad/Grupo)</i>	xx <i>(SOP No.)</i>	v1 <i>(Versión)</i>
Locación:	Remehue			
Autor:	Natalie Urrutia			
Título:	Materia Seca rápida en microondas			
Propósito:	Detallar instrucciones para medir contenido de materia seca en microondas, como método rápido.			
Fecha Creación / modificación:	12.02.2020			

Materiales:

Muestra (ensilaje, pasto fresco, concentrado, etc)
 Recipiente para submuestreo
 Recipiente para microondas
 Tijeras
 Microonda común
 Balanza de precisión
 Papel, lápiz y calculadora.

Instrucciones:

1. Reducir tamaño de partícula de muestra con tijeras en recipiente grande
2. Homogenizar muestra y tomar submuestra representativa de entre 50 a 100 gr.
3. Tarar recipiente para microondas en balanza, y colocar submuestra, registrar peso.
4. En microondas, secar muestra acorde al siguiente ciclo de segundos, y entre cada ciclo, sacar recipiente del microondas, registrar peso y dar vuelta la muestra para favorecer secado de la muestra.

50 segundos	1 vez
40 segundos	2 veces
30 segundos	2 veces
20 segundos	2 veces
10 segundos	Repetir hasta que peso no cambie en 3 últimos pesajes

5. Calcular materia seca:

$$\text{Materia seca, \%} = \frac{\text{Peso Final}}{\text{Peso Inicial}} \times 100$$

Apéndice XXIV. Resultados análisis bromatológico

Variable (g/100g materia seca)	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
Proteína cruda	15.99 ± 0.06	15.98 ± 0.03	17.34 ± 0.29
Fibra detergente neutro	37.33 ± 0.25	37.43 ± 0.7	35.18 ± 1.58
Fibra detergente ácido	22.84 ± 0.34	22.98 ± 0.29	20.82 ± 0.64
Almidón	25.43 ± 0	25.43 ± 0	25.43 ± 0
Carbohidratos solubles	5.97 ± 0.24	5.82 ± 0.74	4.68 ± 0.43
Extracto etéreo	2.56 ± 0.13	2.54 ± 0.14	3.08 ± 0.04
Cenizas	6.73 ± 0.05	6.7 ± 0.19	7.26 ± 0.06
Ca	0.51 ± 0.01	0.5 ± 0.01	0.51 ± 0.08
P	0.36 ± 0	0.37 ± 0.03	0.39 ± 0.01