

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**INCLUSIÓN DE FORRAJE FRESCO DE UNA PASTURA DE ALTA
CALIDAD EN UNA DIETA COMPUESTA POR NIVELES
DECRECIENTES DE RACIÓN TOTALMENTE MEZCLADA: EFECTO
SOBRE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA MICROBIANA EN CORDEROS**

por

Santiago GONNET IBARRA

Matías Nicolás MORALES FERRARO

**TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias**

Orientación: Producción Animal

MODALIDAD Ensayo Experimental

MONTEVIDEO

URUGUAY

2015

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:



Presidente de mesa:

Dra. Carolina Fiol



Segundo Miembro (Tutor):

Dra. Analía Pérez Ruchel

Tercer miembro:

Dr. Alejandro Britos

Cuarto miembro (co-tutor)

Dra. Cecilia Cajarville

Fecha:

Autores:

Santiago Gonnet Ibarra

Matías Nicolás Morales Ferraro

AGRADECIMENTOS

A nuestras familias, por el apoyo brindado y el esfuerzo durante todas las etapas que nos han llevado hasta aquí.

A los amigos de siempre, en especial a la familia Jorajuría-Sallé, y los que hemos cosechado en esta etapa por los muy buenos momentos compartidos y por su colaboración para de una manera u otra ayudarnos a alcanzar este objetivo.

A nuestros compañeros en este trabajo de investigación y en especial a Martín Estramil, Matías Muniz, Marcos Padilla, Daniela Silva y Santiago Ultra

A nuestra tutora la Dra. Analía Pérez y nuestra co-tutora Dra. Cecilia Cajarville por la buena voluntad y el respaldo brindado a lo largo de este trabajo.

A la Dra. Elena De Torres, responsable del campo experimental N°2 de la Facultad de Veterinaria y a todos los funcionarios que posibilitaron nuestro trabajo.

A los integrantes del Departamento de Nutrición y Bovinos de Facultad de Veterinaria por su buena disposición y amabilidad.

Al personal de Biblioteca de Facultad de Veterinaria por su excelente trabajo, su prontitud y excelente disposición.

TABLA DE CONTENIDO	
PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	5
RESUMEN	6
SUMMARY	7
INTRODUCCIÓN	8
ANTECEDENTES DEL RUBRO OVINO	8
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	10
PRODUCCIÓN DE CARNE OVINA	10
CARACTERÍSTICAS DE LAS PASTURAS TEMPLADAS	10
ALTERNATIVAS TECNOLÓGICAS	12
SÍNTESIS DE PROTEÍNA MICROBIANA (SPM)	14
HIPÓTESIS	16
OBJETIVO GENERAL	17
OBJETIVOS PARTICULARES.	17
MATERIALES Y MÉTODOS	18
DISEÑO EXPERIMENTAL, ANIMALES Y DIETAS	18
MEDICIONES	20
Consumo	20
Digestibilidad aparente de la MO	20
Concentración de amoníaco ruminal	20
Síntesis de proteína microbiana	20
ANÁLISIS QUÍMICOS	21
Dietas	21
Heces	21
Líquido Ruminal	21
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	22
RESULTADOS	23
DISCUSIÓN	26
CONCLUSIONES E IMPLICANCIAS	29
BIBLIOGRAFÍA	30

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

- Cuadro 1.** Composición química de los alimentos empleados en el experimentos. 19
- Cuadro 2.** Consumo y digestibilidad de la materia orgánica (MO) en corderos alimentados con forraje fresco de una pastura de alta calidad en una dieta compuesta por niveles decrecientes de ración totalmente mezclada (RTM100, RTM75, RTM50, RTM0). 23
- Cuadro 3.** Consumo de materia seca (CMS) en corderos alimentados con forraje fresco de una pastura de alta calidad en una dieta compuesta por niveles decrecientes de ración totalmente mezclada (RTM100, RTM75, RTM50, RTM0).
- Cuadro 4.** Concentración media de NH₃-N (mg/dL) en el líquido ruminal de corderos a los que se les ofreció forraje fresco de una pastura de alta calidad en una dieta compuesta por niveles decrecientes de ración totalmente mezclada (RTM100, RTM75, RTM50, RTM0). 23
- Cuadro 5.** Síntesis y eficiencia de síntesis de proteína microbiana en corderos a los que se les ofreció forraje fresco de una pastura de alta calidad en una dieta compuesta por niveles decrecientes de ración totalmente mezclada (RTM100, RTM75, RTM50, RTM0). 25
- Figura 1.** Dinámica de la concentración de amoníaco (NH₃-N) en rumen de corderos a los que se les ofreció forraje fresco de una pastura de alta calidad en una dieta compuesta por niveles decrecientes de ración totalmente mezclada (RTM100, RTM75, RTM50, RTM0). 24

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la inclusión de diferentes niveles de forraje fresco de alta calidad (FF) a una dieta compuesta por ración totalmente mezclada (RTM) sobre el consumo y la digestibilidad de la materia orgánica (MO), la síntesis de proteína microbiana (SPM), y la eficiencia de síntesis de proteína microbiana (ESPM) de corderos en crecimiento. Para el mismo se asignaron 24 corderos cruce Corriedale con raza Milchshaf, con una fístula ruminal, alojados en jaulas metabólicas individuales a 1 de 4 tratamientos: "RTM100", la dieta correspondió a RTM a voluntad durante todo el día, "RTM75" RTM al 75% del consumo potencial más FF *ad libitum*, "RTM50" RTM al 50% del consumo potencial más FF *ad libitum*, y "RTM0" cuya dieta consistió totalmente en FF *ad libitum*. El FF (fundamentalmente alfalfa) fue cortado diariamente para ser administrado a los animales una vez consumida la RTM y a voluntad según correspondiera. Se midió el consumo de MO para lo cual se tomaron muestras del alimento ofertado y rechazado para su posterior análisis químico. Se recolectó individualmente la totalidad de las heces excretadas diariamente para la determinación de la digestibilidad aparente de la MO. Además, se extrajeron muestras de líquido ruminal durante un período de 24hs para la determinación de la concentración de amoníaco ruminal (NH₃-N). Por último se colectó la totalidad de la orina de cada animal para la cuantificación de la concentración de las diferentes bases púricas eliminadas en la orina y así estimar la SPM y su ESPM (g de nitrógeno microbiano/ kg MO digestible ingerida). Los datos se analizaron estadísticamente mediante PROC MIXED de SAS[®]. Los consumos de MO aumentaron linealmente con la disminución de la proporción de RTM en la dieta, mientras que la digestibilidad de la MO disminuyó linealmente. La concentración de NH₃-N aumentó linealmente con la disminución de la proporción de RTM en la dieta, sin embargo no hubo efectos sobre la SPM ni sobre la ESPM, aunque sí sobre la eficiencia de uso del nitrógeno, la cual disminuyó al disminuir la RTM. La inclusión de forraje fresco de alta calidad a una dieta compuesta mayormente por RTM aumentó el consumo de MO y no hubo diferencias en la SPM o ESPM.

SUMMARY

The aim of this research was to evaluate the effect of the inclusion of different levels of high-quality fresh forage (FF) on a total mixed ration (TMR) based diet on organic matter intake (OMI) and digestibility (OMD), microbial protein synthesis (MPS) and microbial protein synthesis efficiency (MPSE) in growing lambs. 24 Milschshaf x Corriedale lambs, with a ruminal fistula, $25,2 \pm 3,67$ kg BW, were held on metabolic cages and assigned to one of four treatments: "TMR100", TMR *ad libitum*; "TMR75", 75% of estimated intake as TMR plus FF *ad libitum*; "TMR50" 50% of estimated intake as TMR plus FF *ad libitum*; "TMR0" FF *ad libitum*. FF consisted on fresh dailycut lucern offered once the lambs had finished the TMR or *ad libitum* according to the treatment. Feed offered and rejected was sampled in order to determinate OMI. At the same time faeces were collected to OMD determination. Also ammoniac concentration was measured on ruminal fluid during a period of 24 hours. Finally total urine output was collected to purine derivatives quantification and MPS estimation, MPSE was calculated as the amount of microbial N per kg of digestible OMI. Data was statistically analyzed by PROC MIXED SAS®. OMI and NH₃-N concentration increased linearly with decreasing proportion of TMR on diet while OMD decreased linearly at the same way. No effects were detected on MPS and MPSE, however there was an effect on nitrogen usage efficiency, which was higher with higher proportion of TMR on diet. Higher OMI was found with the inclusion of high-quality FF on TMR based diet with no effects on MPS and MPSE.

INTRODUCCIÓN

ANTECEDENTES DEL RUBRO OVINO

El Uruguay se ha caracterizado por ser un país con una fuerte tradición agropecuaria, y en especial pecuaria. Así lo demuestran los datos de la Dirección de Estadística Agropecuaria, que muestran que en el censo del año 90, el área destinada a ganadería representaba el 71,3 por ciento de la superficie total destinada a la actividad agropecuaria. Representando la ganadería ovejera el 40,8% del área total (DIEA, 2013).

La producción ovina en Uruguay ha estado tradicionalmente enfocada a la producción de lana en condiciones extensivas. Los ovinos son usualmente marginados a los suelos de menor productividad, con menor porcentaje de mejoramientos. Típicamente los basaltos superficiales del norte y las serranías del este se dedican a este tipo de producción. Es fácilmente reconocible que las zonas del país con menor aptitud pastoril, se corresponden con las áreas con más número de ovinos como porcentaje del total.

Sin embargo, durante la década de los 90 con la caída del precio internacional de la lana el rubro sufrió un duro revés. Las exportaciones de lana se redujeron de casi 400 millones de dólares en la zafra 90/91 a menos de 200 millones en la zafra 04/05. A su vez el stock ovino se redujo de casi 25 millones en el ejercicio 90/91 a menos de 10 millones en el ejercicio 04/05. Y, como consecuencia, el área dedicada a ésta actividad pasó de 6.449.000 hectáreas a 1.450.000 en el año 2000, una reducción del 77,5% (DIEA, 2013).

A este panorama negativo se le sumó la competencia de nuevos rubros en los suelos marginales donde se producía lana, principalmente la forestación, que ha tenido un gran empuje con la instalación en el país de industrias productoras de pasta de celulosa. No obstante, a pesar de ese escenario negativo para la exportación de lana, la situación de la exportación de carne se mantuvo relativamente estable, alrededor de 15000 toneladas, hasta el brote de aftosa en el 2000 donde cayó a valores cercanos a las 10000 ton (DIEA, 2013).

Las instituciones relacionadas al rubro buscaron alternativas para re direccionar y reactivar la producción. Es así que desde el Secretariado Uruguayo de la Lana surge la idea del "cordero pesado tipo SUL". El cordero pesado, llamado tipo SUL, surgió con una prueba piloto en el año 1996, con el concepto de producir, fundamentalmente para la exportación, carne de cordero con un peso mayor al tradicional e incrementar la cantidad de carne producida por los establecimientos. Hasta ese momento el cordero era faenado y vendido a fin de año, con un peso en pie de entre 20 y 25kg y un peso de carcasa de unos 10 a 12kg. El cordero pesado tipo SUL es un cordero de cualquier raza de 34 a 45kg de peso vivo, diente de leche, menor a 1 años de edad con 10 a 30 mm de lana, que pueden ser machos castrados, machos enteros hasta 7 meses de edad; o hembras sin preñez.

Las nuevas condiciones de precios y mercados de los productos derivados del rubro ovino llevan a que la carne ovina de calidad constituya un componente importante de los ingresos. El cordero pesado termina siendo un emprendimiento productivo exitoso, que revitaliza la producción ovina nacional.

Esta idea no solo trata de un cambio en el producto ofertado por parte del productor, trata, y demanda, un cambio radical en la forma de encarar la producción. Es necesario incrementar el nivel de inversión, las tecnologías aplicadas a la nutrición y reproducción, la dotación y, de la mano de esto, los suelos que se necesitan son otros. Esta producción ovina intensiva no atenta contra la producción tradicional, por el contrario, se puede encadenar con la producción extensiva de lana, puesto que su insumo primordial son los corderos.

Es posible ver con números esta transformación del rubro. Un indicador importante para evidenciar el cambio es la relación capón/oveja de cría. El capón es un animal típicamente productor de lana, por lo que una caída en este indicador significa un menor énfasis en la producción de lana. En el ejercicio 90/91 la relación capón/oveja de cría era 0.45, en el 00/01 era 0.24 y en el ejercicio 07/08 de 0.16 (elaborado en base a DIEA 2014). Estos índices reflejan claramente la transformación que ha sufrido el rubro.

A su vez, las exportaciones de carne pasaron de 11306 ton en 2001 a 31926 ton en el año 2009. La faena por categoría evidencia cómo la carne dejó de ser un sub producto, faena de ovejas de refugio y capones, a ser el principal producto, faena de corderos. En el año 2002 la faena de corderos representaba el 47% de la faena total, mientras que en el año 2012 representó casi el 70% (en base a DIEA 2014). El peso promedio de carcasa de corderos faenados pasó de 10,5kg en el '96 a un promedio de 15,4 kg en el período '05-'09.

Siendo entonces la producción de carne de cordero, junto con la producción de lana fina, el principal motor del "resurgimiento ovino". Este nuevo escenario con una producción más intensiva, que demanda y apuesta a la aplicación de nuevas tecnologías, exige de asesores y técnicos, mayores herramientas e información para lograr mejores resultados y mayor productividad.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

PRODUCCIÓN DE CARNE OVINA

Entre los factores que afectan a la producción de carne (edad de faena, raza, etc) la dieta es uno de los más relevantes (Osorio *et al.*, 2007). Es por eso que la elección del tipo y componentes de la dieta definen las características y particularidades del sistema de producción, constituyendo el camino a la intensificación.

Uno de los primeros pasos en este camino de intensificación es la utilización de pasturas implantadas. Estrategia muy utilizada en países de clima templado como el nuestro, la cual ofrece ciertas ventajas competitivas.

En los establecimientos de producción intensiva de carne ovina nacionales los corderos son alimentados con pasturas puras y mezclas. Entre las especies que se utilizan podemos encontrar leguminosas como Alfalfa (*Medicago sativa*), Trébol (Género *Trifolium*), Achicoria (Género *Chichorium*), gramíneas como Raigrás (Género *Lolium*) y Avena (Género *Avena*). Estos géneros cuentan con características nutricionales muy ventajosas, alto porcentaje de MO, alto porcentaje de proteína y alta digestibilidad. En tales sistemas los corderos pastorean directamente, utilizándose técnicas como el pastoreo en franjas para mejorar la utilización y el aprovechamiento del pasto. Los engordes a corral se presentan como otra alternativa de intensificación, en ellos el costo de alimentación explica en el orden del 80% de los costos de producción, por lo que sin duda es importante generar mayor información (Piaggio, 2010).

CARACTERÍSTICAS DE LAS PASTURAS TEMPLADAS

La calidad de las pasturas en general, presenta variaciones según la especie forrajera, la época del año, el estado de madurez e incluso variaciones que ocurren en el correr del día (Jarrige *et al.*, 1995), como ocurre con el contenido de azúcares solubles (as) (Repetto *et al.*, 2003b). En nuestro país como se dijo antes, se utilizan gramíneas C₃, leguminosas y mezclas de estas. De acuerdo con un relevamiento realizado en establecimientos productivos nacionales, en el cual se analizaron forrajes cortados en diferentes estaciones y distintos momentos del día, las pasturas presentaron una composición química de 18% de materia seca (MS), 19% de proteína bruta (PB), 40% de fibra neutro detergente (FND) y entre 6 y 10% de as según estación y momento del día (Antúnez & Caramelli, 2009).

Se puede considerar como pasturas de alta calidad aquellas que presentan, entre otros parámetros, porcentajes de FDN menores al 50% (Bargo *et al.*, 2002). Este es el caso de gran parte de las praderas templadas implantadas de nuestro país, que además proveen a los microorganismos (mo) ruminales un sustrato de rápida fermentabilidad y alto contenido de PB de rápida y alta degradabilidad ruminal (Repetto *et al.*, 2005; Antúnez & Caramelli, 2009).

Estas características de las pasturas son relevantes ya que los mo ruminales tienen la capacidad de sintetizar proteína a partir de proteína de baja calidad, e incluso NH₃-N y fibra del forraje, esto constituye una ventaja comparativa enorme del rumiante frente a los monogástricos (Dewhurst *et al.*, 2000). Las pasturas de alta calidad tienen la capacidad de aportar NH₃-N en forma suficiente para la síntesis de proteína (Pérez-Ruchel, 2006; Tebot, 2008; Aguerre *et al.*, 2009; Pérez-Ruchel,

2010). A su vez las pasturas tienen otra ventaja importante, no sólo su aporte de $\text{NH}_3\text{-N}$ es suficiente sino que se hace bajo forma de proteína verdadera. En este tipo de forraje el 80% de su proteína es verdadera. A su vez, el nitrógeno no proteico (NNP) está compuesto mayoritariamente por aminoácidos (aa) libres y péptidos y ha sido demostrado que la proteína verdadera incrementa la síntesis de proteína microbiana (SPM) frente al $\text{NH}_3\text{-N}$ (Hume, 1970; Brito *et al.*, 2007; Broderick, 2009). Lo anteriormente mencionado se potencia con el hecho de que las praderas representan, siempre que sean bien manejadas, una ventaja económica habida cuenta del precio de la tierra y los insumos (Repetto & Cajarville, 2010).

Por otra parte, los productos derivados de animales alimentados con pasturas poseen características nutraceuticas que les confieren un nicho de mercado específico, que puede ser explotado por nuestro país (Saadoun, 2010). En este sentido, el perfil de ácidos grasos (AG) cumple un rol preponderante. De acuerdo con autoridades médicas la relación ácidos grasos n-6: n-3 debería estar por debajo de 4. Mientras que muchos alimentos aportan ácidos grasos poli-insaturados n-6, pocos son fuentes de n-3, entre ellos la carne de rumiante. Por lo tanto, puede ser una contribución importante a la dieta (Warren *et al.*, 2008). A este respecto Vibart *et al.* (2008) demostró que un incremento en el aporte de forraje fresco, proveniente de pasturas a vacas lecheras incrementó las concentraciones de distintos isómeros del ácido linoleico y disminuyó la concentración de ácidos grasos saturados en leche. En un experimento realizado con corderos terminados a pastoreo, se obtuvo un perfil de AG en músculo más bajo en n-6 y mayor en n-3 y en ácido linoleico conjugado, conocido por sus propiedades nutraceuticas (Auroseau, 2007).

Si bien el consumo de pasturas cuenta con múltiples ventajas, también tiene ciertas desventajas, y en particular desde el punto de vista nutricional. Estas realizan un aporte importante de proteína, pero muchas veces el aporte de energía fermentescible en rumen está desbalanceada en relación al aporte de proteína (Antúnez & Caramelli, 2009).

Los as constituyen la más inmediata fuente de energía de la que puede disponer la microbiota ruminal para sintetizar su propia proteína. Resultados nacionales indicarían que la baja relación as/N de las pasturas, ocasionaría que la mayor limitante para el crecimiento de los microorganismos del rumen fuera una deficiencia relativa de carbohidratos (CH) de rápida fermentación respecto al aporte de N (Antúnez & Caramelli, 2009; Repetto, 2003a).

Además, usualmente se observan en estas pasturas altos contenidos de humedad que pueden resultar en bajos consumos de materia seca (MS) por parte de los animales (NRC, 2007). Lo que es más, Kolver afirma que la menor producción de vacas en pastoreo frente a las que consumen RTM es atribuible principalmente al menor consumo de MS (Kolver y Muller, 1998) y no tanto al contenido de energía de las pasturas.

Otra desventaja de las pasturas y en particular en la cosecha directa es la variación en la disponibilidad de forraje a lo largo del año que puede resultar una limitante. Además a pesar de la elevada calidad que poseen las pasturas templadas implantadas, según Kolver (2003), cuando los animales son alimentados únicamente con pasturas no logran alcanzar su máximo potencial productivo.

ALTERNATIVAS TECNOLÓGICAS

Una herramienta que permite superar las limitantes de los sistemas exclusivamente pastoriles es la suplementación de corderos de engorde, sobre campo natural o pasturas sembradas, con concentrados. Esto, junto con el engorde a corral, constituyen las principales estrategias de intensificación (Piaggio, 2010).

La suplementación se basa en la idea de que ante la carencia relativa de energía en la pastura, la adición de un suplemento energético (típicamente grano con alto contenido de almidón) mejora el rendimiento del sistema. Existe amplia información respecto a la suplementación o no con concentrado a animales en pastoreo (Kozloski *et al.*, 2008; Tebot, 2008; Faucitano *et al.*, 2008; Aguerre, 2010). En general, se ha constatado que la suplementación aumentó el consumo y digestibilidad de la MS y MO, aunque la información sobre la SPM no es consistente. De todas maneras, la suplementación de pasturas con almidones u otros CH no fibrosos, no logró mejorar la ESPM en los animales (García *et al.*, 2000; Tebot, 2008; Aguerre, 2010). En base a estos resultados se podría pensar que hay factores intrínsecos de las pasturas templadas que contribuirían a maximizar la eficiencia de utilización de la dieta en el rumen.

Por otra parte, el sistema de engorde a corral consiste en el confinamiento de animales a los cuales se les administra una ración totalmente mezclada (RTM). Las RTM son raciones formuladas para alimentación de rumiantes donde el forraje y el concentrado se ofrecen juntos y mezclados a los animales. Entre las ventajas de este sistema de alimentación se encuentra el mayor consumo de MS (Kolver *et al.*, 1998), el consumo de cantidades precisas de cada ingrediente de la dieta, la mínima posibilidad de selección, el mejor balance de nutrientes y sincronía de disponibilidad de los mismos a nivel ruminal (Gill, 1979). Este último punto es importante ya que para optimizar la ESPM, es necesaria la sincronía de N y energía (CH de fácil fermentación) disponibles a nivel ruminal (Hersom, 2008). Aunque, debido a la complejidad del ecosistema microbiano ruminal, cuando el aporte de estos nutrientes es sincronizado para una subpoblación específica no lo es así para otra (Tebot, 2008).

Si bien se ha conducido algún experimento con animales alimentados solo con RTM (Piaggio *et al.*, 2013), en nuestro país todavía no se emplea a nivel comercial. Pero a nivel mundial si es frecuente la utilización de esta tecnología.

Con el objetivo de aumentar la producción animal y aprovechar las bondades de las pasturas, diferentes autores comenzaron a evaluar la combinación de forraje fresco de pasturas templadas y RTM administrados en períodos alternados del día (Bargo *et al.*, 2002a 2002b; Vibart *et al.*, 2008 y 2010; Santana, 2012; Mendoza *et al.*, 2012). En el trabajo realizado por Bargo *et al.* (2002a), la combinación de pastura con RTM, en vacas lecheras, incrementó la eficiencia de utilización de N debido a la reducción de las pérdidas de N y al incremento de producción de leche con similar consumo total de N.

En esta misma línea, Vibart *et al.* (2008) encontraron que la concentración de proteína en leche fue mayor para vacas con una relación RTM:pastura de 68:32 sin diferencias significativas en el consumo de PB frente a solo RTM y otras combinaciones RTM y pastura, concluyendo que esa combinación mejoró la eficiencia de utilización de los nutrientes. Además, con la combinación de RTM y

pasturas se observó un aumento en la digestibilidad total de la dieta a medida que se aumentó la proporción de pastura en la misma, hasta una inclusión del 33% de forraje (Vibart *et al.*, 2010).

Wales *et al.* (2013) revisaron la literatura existente respecto a la combinación de RTM y pasturas en vacas lecheras. Estos autores afirman que los sistemas de alimentación basados en la oferta de RTM a animales que pastorean pasturas perennes (raciones parcialmente mezcladas o RPM), presentan un terreno fértil en el cual trabajar a fin de mejorar los indicadores productivos y la eficiencia de alimentación, pero a su vez presentan desafíos significativos. Este sistema RPM ha generado una alta performance animal, debido a que el consumo total de MS fue más alto que con la utilización únicamente de pasturas, y una producción de leche con mayores tenores de grasa y proteína que con la utilización únicamente de RTM.

Trabajos nacionales realizados con bovinos, muestran que se pueden incluir pasturas a dietas RTM en baja proporción sin efectos adversos en el consumo y digestibilidad de la dieta ni en la SPM (Mendoza *et al.*, 2012; Santana, 2012; Pomiés, 2014). En ovinos, existen escasos trabajos a nivel internacional y, además, éstos se han enfocado en aspectos productivos (Murphy *et al.*, 1994a; Aurousseau *et al.*, 2007; Carrasco *et al.*, 2009). No hemos encontrado información acerca de los procesos de fermentación ruminal, digestión y metabolismo de los nutrientes, en particular del aprovechamiento de N. Resulta esencial estimar y predecir cuanta proteína microbiana (PM) se produce a nivel ruminal para lograr un mejor uso del N del forraje y de otras fuentes de proteína más costosas (Dewhurst *et al.*, 2000).

SÍNTESIS DE PROTEÍNA MICROBIANA (SPM)

La PM es la principal fuente de proteína del rumiante, de alto valor biológico y digestibilidad intestinal (Stern *et al.*, 1994; Dewhurst *et al.*, 2000). Además de su elevada calidad, la PM constituye más de la mitad de los aa absorbidos por los rumiantes, e incluso alcanza 2/3 a 3/4 (AFRC, 1992).

La SPM depende de diversos factores, entre ellos de la cantidad de MO degradada en rumen, que proporciona la energía y los monómeros necesarios para la síntesis de los constituyentes celulares microbianos. La cantidad de MO degradada en rumen es afectada por el nivel de ingesta, digestibilidad del forraje y de la relación entre las cantidades de N y MO degradada (Akif Karsil & Russel, 1999). La SPM depende también de la cantidad y forma de los CH disponibles en rumen, y del nivel proteico de la dieta (Hristov *et al.*, 1997).

Debido a la importancia que tiene la PM, es relevante cuantificar el flujo de N microbiano que llega al duodeno de los animales (Akif Karsil & Russel, 1999), con el fin de corregir la dieta de los mismos. Para su estimación se pueden utilizar diversas técnicas basadas en el uso de marcadores internos (ácido diaminopimélico, ácidos nucleicos, purinas y pirimidinas) y externos (Sandoval & Herrera, 1999).

En rumiantes, hipoxantina, xantina, ácido úrico y alantoína, son el producto final del catabolismo de las purinas, a los cuales se les denomina derivados de purinas (DP). Los DP excretados en orina pueden provenir de tres fuentes, de los mo, de la dieta o de origen endógeno. Siendo esta última resultado del recambio tisular de los animales. En animales a pastoreo o con bajos niveles de suplementación, la contribución de purinas de la dieta es mínima, debido a que estos alimentos se degradan casi exclusivamente en rumen (Sandoval & Herrera, 1999).

Por lo anterior en los rumiantes los DP parecen provenir principalmente de los ácidos nucleicos de los mo que son degradados y absorbidos a nivel duodenal. Por lo tanto, la determinación de los DP excretados en orina representa una alternativa simple y no invasiva para la estimación de la SPM en rumen.

Otro parámetro importante a considerar es la eficiencia de síntesis de proteína microbiana (ESPM) que puede ser expresada como los gramos de N microbiano que llegan al duodeno por kilogramo de MO verdaderamente degradada en rumen (Clark *et al.*, 1992). El AFRC (1992) adoptó para pasturas un valor promedio de 30g/Nmo por Kg MO aparentemente degradada en rumen (MODR), pero en la bibliografía se encuentra un amplio rango de valores.

La concentración de $\text{NH}_3\text{-N}$ en rumen resulta primordial. Este aporta casi la totalidad del N que las bacterias utilizan para la síntesis de sus proteínas, es por eso que el $\text{NH}_3\text{-N}$ podría ser considerado como un intermediario clave entre la fermentación de los alimentos por los mo y la SPM (McDonald *et al.*, 2006).

Las concentraciones diarias de $\text{NH}_3\text{-N}$ son dinámicas ya que dependen de la dieta, el tiempo y frecuencia de alimentación, entre otros factores como por ejemplo en qué medida es utilizado por los microorganismos (Hristov *et al.*, 2005). En general la concentración de $\text{NH}_3\text{-N}$ aumenta durante la comida y alcanza un nivel máximo al final de la misma. Las concentraciones consideradas como mínimas necesarias para una óptima síntesis de PM varían entre 5 y 20 mg/dl (Satter & Slyter, 1974; Mehrez y McDonald 1977). Si bien este rango es amplio, experimentos realizados en el país

demuestran que ovinos pastoreando pasturas templadas de alta calidad exceden ampliamente estos valores (Pérez-Ruchel, 2006; Tebot, 2008; Aguerre *et al.*, 2009; Pérez-Ruchel, 2010).

Las principales fuentes de amoníaco ruminal son la proteína de la dieta, NNP y los aportes endógenos cuyo componente principal es el nitrógeno reciclado proveniente del ciclo de la urea. La proteína de la dieta constituye el aporte más importante y puede dividirse en dos diferentes fracciones, proteína degradable en rumen (PDR) y proteína no degradable en rumen o by-pass. La PDR se degrada en rumen en dos etapas, en la primera etapa se produce la ruptura de los enlaces peptídicos y la liberación de los aa constituyentes de la cadena proteica, algunos de los cuales serán incorporados a la PM. En la segunda etapa la mayor parte de los aa sufren un proceso de decarboxilación y desaminación que da lugar a la liberación de ácidos grasos volátiles (AGV), CO₂ y NH₃. En cuanto al NNP aproximadamente el 30% del nitrógeno consumido por los rumiantes se encuentra en forma de compuestos orgánicos sencillos como aa, amidas y aminas, o compuestos inorgánicos como los nitratos. La eficiencia con que los microorganismos del rumen captan el nitrógeno depende, no solo de la rapidez y magnitud de la degradación, sino también de la existencia, al mismo tiempo, de una fuente de energía fácilmente utilizable para la SPM (McDonald *et al.*, 2006).

El NH₃-N que no puede ser captado por las bacterias pasa a la sangre donde es transportado hacia el hígado. En el hígado es convertido a urea, parte de ésta va a las glándulas salivales donde vuelve a volcarse al rumen con las secreciones de saliva. Esta adaptación es muy importante puesto que permite reciclar NH₃-N que de otra forma se perdería provocando una mayor ineficiencia en la SPM (McDonald *et al.*, 2006). A su vez la ureogénesis hepática es de vital importancia para los rumiantes, para evitar la intoxicación por NH₃-N (Lapierre *et al.*, 2005).

Dada la compleja interacción a la que están sometidas todas estas variables resulta incuestionable la necesidad de avanzar en la búsqueda y generación de información innovadora, sobre estos temas, que aseguren el desarrollo y sustentabilidad de las producciones pecuarias en las condiciones que se presentan actualmente y se presentarán casi seguramente en un futuro no muy lejano. Este avance solo puede ser garantizado mediante la incuestionable rigurosidad de la investigación científica.

HIPÓTESIS

La inclusión de FF de una pastura de alta calidad en una dieta compuesta por niveles decrecientes de RTM en ovinos en crecimiento, resultará en un menor consumo total de MO, sin deprimir la producción de proteína microbiana, mediante una mejora en la eficiencia de síntesis de proteína microbiana.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de incluir FF a una dieta compuesta por niveles decrecientes de RTM sobre el consumo y digestibilidad de la MO, la ESPM, la EUN y su impacto en producción de proteína microbiana de corderos en crecimiento.

OBJETIVOS PARTICULARES.

Evaluar el consumo y la digestibilidad de la MO en ovinos en crecimiento alimentados con diferentes combinaciones de RTM y FF.

Evaluar las dinámicas de concentración de amoníaco en el rumen de ovinos en crecimiento cuando se incluye FF de una pastura templada en una dieta compuesta por diferentes niveles de RTM.

Estimar SPM y determinar su ESPM, así como también la EUN en ovinos en crecimiento alimentados con diferentes combinaciones de RTM y FF.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el Departamento de Nutrición Animal en el Campo Experimentan N°2 de Facultad de la Facultad de Veterinaria (Libertad - San José, Uruguay). El mismo se realizó de acuerdo a la ordenanza para el uso de animales en experimentación, docencia e investigación de la Universidad de la República.

DISEÑO EXPERIMENTAL, ANIMALES Y DIETAS

Se utilizó un diseño experimental de bloques completamente al azar con una duración de 24 días (14 días de adaptación a las dietas y condiciones experimentales y 10 días de mediciones). Se utilizaron 24 corderos, cruce Corriedale con Milchscharf, de seis a ocho meses de edad (diente de leche), castrados y con un peso vivo (PV) de $25,2 \pm 3,67$ kg, fistulizados en rumen y alojados en jaulas metabólicas individuales.

Los corderos fueron bloqueados según su PV y posteriormente asignados al azar a cada tratamiento, según la dieta a administrar:

*RTM: RTM a voluntad durante todo el día.

*RTM75: RTM a un nivel del 75% del consumo potencial de los animales y luego FF a voluntad durante el resto del día.

*RTM50: RTM a un nivel del 50% del consumo potencial de los animales y luego FF a voluntad durante el resto del día.

*RTM0: FF a voluntad durante todo el día

El consumo potencial fue determinado ofreciendo alimento *ad libitum* y registrando el consumo, el cual se situó en el entorno del 4% del PV. Esta referencia se utilizó para determinar las cantidades de RTM en los tratamientos RTM75 y RTM50

La RTM fue formulada de acuerdo a tablas de requerimientos de NRC (2007), y para ser administrada como único alimento, y obtener una ganancia diaria de 300 gramos. La misma estaba compuesta en base seca por 30% de ensilado de planta entera de maíz, 32.1% de grano partido de maíz, 35% de harina de soja peleteada, 1.2% de bicarbonato de sodio (99% pureza), 1.0% de carbonato de calcio (98.5% pureza), 0.5% de cloruro de amonio (99.6% pureza) y 0.2% de una mezcla de sales y vitaminas (hierro, cobre, magnesio, manganeso, calcio, fósforo, zinc, cloruro de sodio, vitaminas A, D3, E, B1, B6, B12, nicotinamida y pantotenato de calcio). La composición química de la misma se presenta en Cuadro 1. Esta RTM fue preparada y ofrecida a los animales correspondientes, cada día a partir de la hora 10:00 am.

El FF (ver composición en la Cuadro 1) provenía de una pastura en estado vegetativo, con una disponibilidad inicial de 1475 kg MS/ha, compuesta principalmente por alfalfa (*Medicago sativa*, 79,2% base seca) pero también por (base seca): raigrás (*Lolium multiflorum*): 15,6%, lotus (*Lotus corniculatus*): 1%, malezas y restos muertos: 4,2%. El mismo fue cortado diariamente a las 13:00 h con

una segadora de disco, a una altura de 5 cm del suelo y ofrecido fresco a partir de las 14 00hs aprox. Se comenzaba a renovar la oferta a las 10:00 am utilizando el FF del día anterior y una vez cosechado se comenzaba a ofrecer el FF del día.

Cuadro 1. Composición química de los alimentos empleados en el experimento (media \pm desvío estándar)

	Dietas		Ingredientes aislados		
	FF**	RTM**	Harina de soja***	Maíz partido***	Ensilado de planta entera de maíz***
MS, %	29,6 \pm 3,05	40,1 \pm 2,53	88,9 \pm 2,86	89,0 \pm 0,28	15,6 \pm 0,42
MO*	90,5 \pm 0,02	94,0 \pm 0,21	94,0 \pm 0,22	98,4 \pm 0,07	91,5 \pm 0,23
FND*	37,4 \pm 2,68	35,4 \pm 6,53	21,1 \pm 2,40	12,0 \pm 3,07	64,0 \pm 0,74
FAD*	21,1 \pm 0,31	17,2 \pm 0,39	7,59 \pm 1,21	3,20 \pm 0,04	34,4 \pm 0,56
PB*	20,9 \pm 2,61	19,8 \pm 1,70	46,0 \pm 0,50	13,6 \pm 0,14	8,11 \pm 0,05
NIDN	23,5 \pm 1,70	14,8 \pm 1,33	---	---	---
NIDA	13,0 \pm 2,39	9,49 \pm 0,76	---	---	---
CHNE*	30,5	36,3	25,6	69,9	17,2
AS*	9,68 \pm 1,01	6,52 \pm 1,57	---	---	---
EM (Mcal/kg MS)	2,36	2,41	2,69	2,87	1,84

MS: materia seca; MO: materia orgánica; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; PB: proteína bruta; NIDN: nitrógeno insoluble en detergente neutro (% del N); NIDA: nitrógeno insoluble en detergente ácido (% del N); CHNE: carbohidratos no estructurales; AS: azúcares solubles en agua; EM: energía metabolizable; *: % en base seca. ** n = 10 (muestras correspondientes a cada uno de los días de medición); ***: n = 2 (muestras puntuales analizadas al inicio del experimento)

Tanto el forraje como la RTM fueron ofrecidos por separado. Se suministró RTM *ad libitum* al grupo RTM, cantidades fijas de RTM a los grupos RTM75 y RTM50 según el tratamiento y cuando los animales terminaron se les ofreció forraje a voluntad. Los animales sometidos al tratamiento RTM0 fueron alimentados con pastura *ad libitum*.

MEDICIONES

Consumo: El consumo individual de MO fue medido diariamente durante 10 días y se calculó como la diferencia entre oferta y rechazo. Cada día se tomó una muestra de la RTM y del FF ofrecido, así como del rechazo en caso de que el mismo excediera el 20% de lo ofrecido.

Digestibilidad aparente de la MO: La digestibilidad aparente de la MO fue medida individualmente y diariamente durante 5 días. Cada día se recolectaron las heces excretadas por cada animal y se almacenó congelada (-20°C) una muestra de unos 100g. Posteriormente, las muestras fueron secadas y molidas para luego confeccionar una única muestra compuesta de cada animal (pool de heces) a partir de las muestras de cada día en forma proporcional a la cantidad excretada.

El coeficiente de digestibilidad se calculó como: (cantidad ingerida (g) – cantidad eliminada en heces(g)) / cantidad ingerida (g).

Concentración de amoníaco ruminal: Se estudió la evolución diaria de las concentraciones de NH₃-N en el rumen. Durante 24 horas se extrajeron muestras de líquido ruminal de cada animal, hora a hora durante 12 ha partir de la oferta de RTM y luego cada 4h. Se almacenaron (-20°C) muestras de cada animal y hora (1 mL), con ácido sulfúrico al 50% como conservante (0,2 mL) para la posterior determinación de la concentración de N-NH₃ de las mismas.

Síntesis de proteína microbiana: Se colectó diariamente la totalidad de orina eliminada por cada animal sobre 100 mL de un conservante (ácido sulfúrico 10%, v/v), durante 5 días. Se colectó una muestra de 100 mL y se conservó a -20°C para su posterior análisis. Previo a los análisis de orina se confeccionó una muestra compuesta individual de orina (pool de orina). Cada uno de los DP eliminados en orina fueron cuantificados de acuerdo a Balcells *et al.* (1991) por HPLC (DionexUltimate[®] 3000), empleando una columna Acclaim C18, 5 µm, 4,6 x 250 mm, a 205 nm. La SPM fue estimada a partir de la excreción urinaria de DP de acuerdo a la ecuación propuesta por Puchala y Kulasek (1992) como:

$$Y = e^{(0,747+1,817x)},$$

donde “Y” representa el flujo de nitrógeno microbiano (g/d) y “x” la excreción urinaria de nitrógeno de DP totales (NDPT, g/d). La eficiencia de SPM fue expresada: g de nitrógeno microbiano por kg de MO digestible ingerida (g Nmo/kg MODI). La MODI se calculó como: coeficiente de digestibilidad de la MO x MO ingerida (kg).

La EUN fue calculada dividiendo el valor de SPM hallado mediante el procedimiento anteriormente descrito entre la cantidad de N consumido y expresado como gramos de SPM por gramo de N consumido.

ANÁLISIS QUÍMICOS

Dietas: Las muestras de alimentos (ofrecidos y rechazados) fueron analizadas para MS, MO, PB (N x 6,25), FND y FAD. Los contenidos de MS se determinaron secando es estufa a 60°C durante 48hs, MO incinerando en mufla durante 4 hs y PB (N x 6,25) mediante el método de Kjeldhal. Las concentraciones de FND y FAD fueron analizadas de acuerdo a Robertson y Van Soest (1981), utilizando un analizador de fibra (TE- 149, Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) y expresadas sin incluir las cenizas residuales. Todas las determinaciones de FND fueron realizadas utilizando sulfito de sodio y alfa amilasa. Los contenidos de nitrógeno insoluble en detergente ácido (NIDA) y en detergente neutro (NIDN) fueron analizados de acuerdo a Licitra *et al.* (1996). El contenido de carbohidratos no estructurales (CHNE) fue calculado como $100 - (\%FND + \%PB + \% \text{ extracto etéreo (EE)} + \% \text{ cenizas})$, de acuerdo con Sniffen *et al.* (1992) y el contenido de AS fue determinado mediante la técnica descrita por Yemm y Willis (1954). Se emplearon las ecuaciones propuestas por Fonnesbeck *et al.* (1981) para estimar el contenido de Energía Digestible (ED, Mcal/kg de MS) y por Garrett *et al.* (1959) para estimar el contenido de Energía Metabolizable (EM, Mcal/kg de MS) a partir de la ED. Todas las muestras se analizaron por duplicado, aceptando coeficientes de variación entre análisis del 3 al 5 % según el parámetro.

Heces: Se analizó el contenido de MO de las heces de igual manera que para las dietas.

Líquido Ruminal: Se analizó la concentración de $\text{NH}_3\text{-N}$ de las muestras por colorimetría (Weatherburn, 1967).

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Todos los datos se compararon entre tratamientos utilizando Proc Mixed del SAS[®] (2002).

Los datos de consumo, digestibilidad, síntesis de PM y su eficiencia se compararon entre tratamientos utilizando el modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + e_{ijk}$$

donde μ es la media general, T_i es el efecto fijo del tratamiento ($i = \text{RTM100, RTM75, RTM50 o RTM0}$) en i réplicas de animal ($n = 6$ corderos), B_j el efecto aleatorio del bloque ($j = 6$ bloques), y e_{ijk} es el error residual.

Los datos de las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ se analizaron como medidas repetidas sobre el animal utilizando SP (POW) de acuerdo al modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + B_j + t_k + (T \times t)_{ik} + e_{ijkl}$$

donde Y_{ijkl} es la variable dependiente, μ es la media general, T_i el efecto fijo del tratamiento ($i = \text{RTM100, RTM75, RTM50 o RTM0}$) en i réplicas de animal ($n = 6$ corderos), B_j el efecto aleatorio del bloque ($j = 6$ bloques), t_k el efecto fijo del tiempo ($k = 0:00 - 23:00$ h), $(T \times t)_{ik}$ la interacción entre tratamiento y tiempo, y e_{ijkl} el error residual.

Las medias de todos los parámetros evaluados fueron comparadas mediante regresiones lineales y cuadráticas. Se aceptaron como diferencias significativas valores de P menores a 0,05 y como tendencia valores de P mayores a 0,05 y menores a 0,1.

RESULTADOS

El consumo de MO total y de MO aportada por el FF, aumentó linealmente con la disminución en la oferta de RTM (Cuadro 2). El consumo de MS (Cuadro 3) de FF fue mayor a la disminución del consumo de MS de RTM dando como resultado el mayor consumo total de MS y MO. Mientras que, el coeficiente de digestibilidad de la MO disminuyó en forma lineal con la disminución de RTM (Cuadro 2).

Cuadro 2. Consumo y digestibilidad de la materia orgánica (MO) en corderos alimentados con forraje fresco de una pastura de alta calidad en una dieta compuesta por niveles decrecientes de ración totalmente mezclada (RTM100, RTM75, RTM50, RTM0).

	RTM100	RTM75	RTM50	RTM0	EEM ^b	Valor-P ^a	
						L	C
MO (g/d, base seca)^b							
Total	738	859	805	1021		0.009	0.662
Coeficiente de digestibilidad							
MO	0.76	0.75	0.72	0.72	0.014	0.018	0.174

^aNivel de significancia: efecto lineal (L) y efecto cuadrático (C) de la disminución del RTM en la dieta.

^bError estándar de las medias ($n = 6/\text{tratamiento}$).

Cuadro 3. Consumo de materia seca (CMS) en corderos alimentados con forraje fresco de una pastura de alta calidad en una dieta compuesta por niveles decrecientes de ración totalmente mezclada (RTM100, RTM75, RTM50, RTM0).

	RTM100	RTM75	RTM50	RTM0	EEM ^b	Valor-P ^a	
						L	C
CMS (g/d)^a							
RTM	753	514	338	—	10.80	<0.001	0.260
Alfalfa	—	404	548	1080	63.05	<0.001	0.368
Total	753	918	886	1080	75.91	0.004	0.958

Las concentraciones medias de NH₃-N se presentan en el Cuadro 4. Las mismas fueron afectadas por los tratamientos, así como también por el tiempo. A medida que disminuyó la oferta de RTM y aumentó el consumo de FF aumentaron las concentraciones de amoníaco en rumen.

Cuadro 4 Concentración media de NH₃-N (mg/dL) en el líquido ruminal de corderos a los que se les ofreció forraje fresco de una pastura de alta calidad en una dieta compuesta por niveles decrecientes de ración totalmente mezclada (RTM100, RTM75, RTM50, RTM0).

	RTM10	RTM7	RTM5	RTM	EEM	Valor-P ^a				
	0	5	0	0	^b	T	t	Txt	L	C
NH ₃	17.6	23.5	30.5	40.0	2.28	<0.00	<0.00	0.03	<0.00	0.43

^aNivel de significancia del tratamiento (T), tiempo (t), interacción tratamiento por tiempo (Txt); efectos lineal (L) y cuadrático (C) de la disminución del nivel de RTM en la dieta.

^bError estándar de las medias ($n = 6/\text{tratamiento}$).

Como se puede ver en la Figura 1 las concentraciones máximas de NH₃-N para el tratamiento RTM100 fue de 33,5 mg/dl a la hora 10; 38,5 mg/dl para el tratamiento RTM75 a la hora 10; de 46,8 mg/dl para RTM50 a la hora 19 y 61,5 mg/dl para el tratamiento RTM0 a la hora 10. Estos picos son concurrentes al inicio del suministro de alimento para el caso de los tratamientos RTM100, RTM75 y RTM0, y al cambio a FF para el tratamiento RTM50. Además, se registró una interacción entre el tratamiento y la hora, ya que las curvas de concentración a lo largo del día (dinámicas) fueron significativamente diferentes (Cuadro 3 y Figura 1).

Se observa en la figura 1 que a partir de la hora 17:00, al mismo tiempo que el tratamiento RTM50 cambia a FF, la curva RTM50 comienza a distanciarse de las de RTM75 y RTM100. Se observa que la curva del tratamiento RTM75 se distancia con respecto al RTM100 cuando cambia a FF a la hora 19. La concentración de NH₃-N nunca disminuyó por debajo de 10 mg/dl en ninguno de los tratamientos.

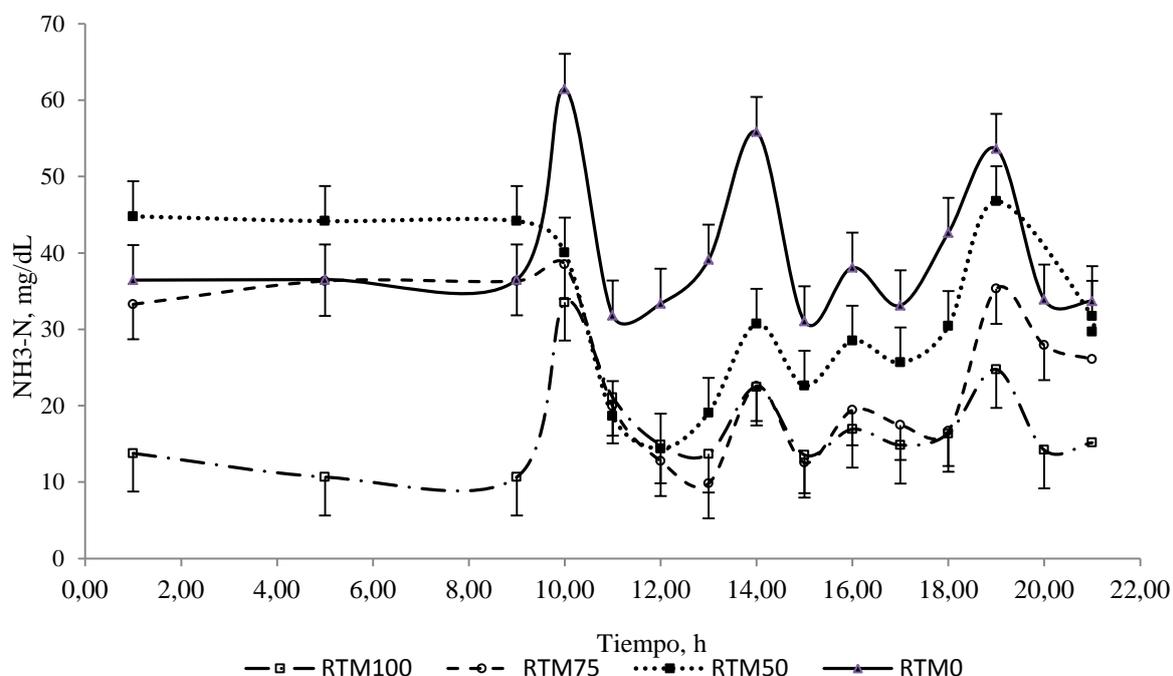


Figura 1. Dinámica de la concentración de amoníaco (NH₃-N) en el rumen de corderos a los que se les ofreció forraje fresco de una pastura de alta calidad en una dieta compuesta por niveles decrecientes de ración totalmente mezclada (RTM100, RTM75, RTM50, RTM0).

Tanto la cantidad de N total de derivados de purinas eliminados en orina (NTDP), como la SPM y la ESPM (SPM, g/Kg MODI) fueron similares entre tratamientos (Cuadro 5). Sin embargo, la eficiencia en el uso de N ingerido (EUN) aumentó linealmente a medida que aumento el nivel de RTM en la dieta (Cuadro 5). Lo cual significa que por cada gramo de N ingerido cuanto mayor fue el porcentaje final de RTM en la dieta mayor fue la SPM

Si bien no se encontraron diferencias significativas en la ESPM se observa una tendencia a aumentar con la disminución de RTM en la dieta.

Cuadro 5. Síntesis y eficiencia de síntesis de proteína microbiana en corderos a los que se les ofreció forraje fresco de una pastura de alta calidad en una dieta compuesta por niveles decrecientes de ración totalmente mezclada (RTM100, RTM75, RTM50, RTM0).

	RTM100	RTM75	RTM50	RTM0	EEM ^b	Valor-P ^a	
						L	C
SPM^c							
NTDP ^d , g/d	0.18	0.26	0.17	0.22	0.05	0.289	0.871
SPM ^e , g/d	2.98	3.43	2.93	3.19	0.28	0.278	0.961
ESPM							
SPM, g/kg MODI ^f	4.19	5.03	5.95	5.81	0.72	0.100	0.432
Eficiencia en el uso del nitrógeno ingerido (EUN)							
g SPM /g N ingerido	0.134	0.108	0.111	0.083	0.014	0.004	0.878

^aNivel de significancia del tratamiento (T), tiempo (t), interacción tratamiento por tiempo (Ttx); efectos lineal (L) y cuadrático (C) de la disminución del nivel de RTM en la dieta.

^bError estándar de las medias ($n = 6$ /tratamiento).

^cSíntesis de proteína microbiana.

^dNitrógeno total derivado de purinas en orina

^fMateria orgánica ingerida aparentemente digestible.

DISCUSIÓN

Los niveles de consumo de MO que registramos, se encuentran dentro del rango de valores esperados de acuerdo a su categoría (NRC, 2007).

Según NRC (2007) los requerimientos energéticos para esta categoría con esta ganancia de peso estimada son de 2,1 Mcal de EM por día mientras que los requerimientos de PB alcanzan los 169g/día. A excepción del tratamiento RTM100, cuyo consumo de EM fue de 1,83 Mcal/d los restantes tratamientos cubrieron los requerimientos de energía. En el caso de la PB el comportamiento es similar siendo el consumo de PB para el tratamiento RTM100 de 149g/d. Cabe aclarar que los requerimientos mencionados fueron extraídos de tablas norteamericanas que no se corresponden estrictamente con la variabilidad real de nuestros sujetos de estudio (raza, peso exacto, etc.). Por otra parte, y como se discutirá en mayor detalle a continuación, es posible que existieran factores comportamentales que limitaran el consumo de RTM.

La digestibilidad de la MO disminuyó a medida que disminuyó la proporción de RTM en la dieta, y también a medida que el consumo aumentó. Es posible que, para poder aumentar el consumo, los corderos hayan aumentado la velocidad de tránsito por el tubo digestivo, esto determina un menor tiempo de contacto del alimento con las enzimas microbianas y digestivas que podría haber determinado la caída en la digestibilidad (McDonald, 2006)

Contrario a lo esperado el consumo de MO en este experimento fue mayor a medida que disminuyó la proporción de RTM en la dieta. En la bibliografía consultada para este trabajo el consumo de MO de FF fue consistentemente menor al de RTM (Kolver y Muller, 1998; Bargo, *et al.*, 2002b; Vibart, 2008.). Sin embargo, es necesario puntualizar que estos trabajos fueron realizados en bovinos y particularmente en vacas lecheras, para este trabajo no se pudo acceder a bibliografía que comparara el desempeño de ovinos consumiendo RTM, PMR o pasturas aunque Aguerre (2013) comparando el efecto de la suplementación con grano de sorgo a bovinos y ovinos que consumían FF *ad libitum*, encontró que al incrementar el nivel de suplementación mientras que en los bovinos se producía un incremento del consumo total, en ovinos se producía una disminución del consumo, atribuido o asociado a un efecto negativo en la digestibilidad de la fibra. Por lo que los resultados previamente mencionados no son necesariamente extrapolables a la especie ovina, no solo se trata de una especie distinta sino también de una producción con exigencias muy distintas.

Por esta razón es natural pensar que podrían existir factores físicos y comportamentales que podrían estar influyendo en estos resultados.

Forbes (2007) postula un modelo basado en el mínimo total discomfort para explicar el consumo por parte de los rumiantes el cual se basa en diferentes postulados. A saber, el aporte óptimo de nutrientes (entendido como el punto en el cual la tasa de aporte de un nutriente se acerca más a la tasa de utilización), la deficiencia o exceso (relacionado por ejemplo al discomfort por tiempo extra destinado a comer para suplir una carencia del alimento), los "discomforts" pueden transformarse y sumarse. Por lo tanto y de acuerdo a este autor los animales alteran el consumo y/o la selección de alimentos en una dirección que reduce el discomfort total, en otras palabras, modifican su comportamiento ingestivo en persecución de un menor

discomfort. Por lo que es razonable pensar que la menor concentración de nutrientes en el FF vs otros factores propios de este tipo de pastura templada de alta calidad, ofrecen un "discomfort total mínimo" a los corderos en comparación al consumo de RTM.

Como se dijo previamente es evidente que los corderos modificaron de alguna forma su comportamiento lo cual se tradujo en mayor consumo. Si bien no forma parte de este trabajo en este experimento se evaluó el comportamiento de los corderos. Es interesante destacar algunos de los resultados obtenidos en esa evaluación. En primer lugar, los resultados obtenidos por Muniz & Silva (2014) muestran que los corderos dedicaron más tiempo a comer y a rumiar en detrimento del descanso, lo cual es lógico, pero sin embargo no dedicaron más tiempo por kg de MS. En su lugar aumentaron la tasa de ingestión. Es decir que la oferta de FF motivó un aumento en la tasa de ingestión y una renuncia al tiempo de descanso en favor de comer y rumiar que explican el mayor consumo de MO pese a su menor concentración en el alimento.

En contraposición, resultados obtenidos por Mendoza *et al.* (2012) obtenidos en vacas Holstein, quienes evaluaron el impacto de 0, 4 y 8 horas de acceso a FF en vacas alimentadas con RTM encontraron una menor tasa de ingestión al disminuir el porcentaje de RTM, lo cual afirma la idea que los resultados obtenidos en bovinos no son extrapolables a la especie ovina o al menos deben ser relativizados.

Muniz & Silva (2014) mostraron además que el suministro de FF recién cortado (14 hs) resultó un estímulo al consumo que fue superior incluso, al que produjo el cambio de un tipo de alimento por otro en los animales alimentados con RTM y FF.

Resultados obtenidos comparando el consumo de fardos realizados unos con alfalfa cortada por la mañana y otros por la tarde, mostraron un mayor consumo de MO en los cortados por la tarde, lo cual se relacionó con la mayor concentración de AS (Brito *et al.* 2009). A su vez las leguminosas (componente principal del FF) poseen mayores concentraciones de AS que las gramíneas (Van Soest, 1994) y parte de estos se consumen durante la fermentación anaeróbica que se produce en el proceso de ensilaje por lo cual la concentración de AS en el RTM fue menor que en FF. Es posible que este sea uno de los motivos por el cual los corderos prefirieron consumir más FF.

En cuanto a la concentración de amoníaco se puede considerar que los resultados obtenidos no son valores considerados como limitantes para la SPM. Los valores obtenidos fueron significativamente mayor a medida que disminuyó el porcentaje de RTM en la dieta lo cual coincide con resultados obtenidos en bovinos por Bargo, *et al.* (2002) quien utilizó 6 vacas holstein multíparas para evaluar pastura más concentrado, pastura más RTM y solo RTM.

Sin embargo, resultados nacionales obtenidos por Pomiés (2014), comparando tres dietas con diferente proporción de RTM y FF (RTM100, RTM75 y RTM50) también en bovinos holstein en lactación fueron contrarios a los mencionados anteriormente. Aunque el porcentaje de PB del forraje utilizado en el experimento de Pomiés (2014) es sensiblemente menor al utilizado en el presente experimento. Nuestros resultados podrían explicarse por la alta degradabilidad de la proteína del FF como los reportados en pasturas de alta calidad por Repetto *et al.*, (2005) y el mayor consumo total de nitrógeno.

Con respecto a las dinámicas de concentración de $\text{NH}_3\text{-N}$ como era esperable los valores aumentaron luego de la oferta de alimento fresco y tendieron a estabilizarse posteriormente, evidenciándose los momentos en que se ofertaba más alimento (aproximadamente cada 2 horas). A su vez es notorio el impacto del cambio en la oferta de RTM por FF en los tratamientos RTM75 y RTM50 una vez que estos consumían el RTM asignado.

Contrario a las hipótesis planteadas inicialmente y a resultados obtenidos por Bargo *et al.* (2002) altos valores de amoníaco ruminal detectados en los tratamientos que incluían pastura y particularmente en el RTM0 no se tradujeron en un aumento de la SPM, posiblemente por la incapacidad de los microorganismos para captarlo. A su vez hay una tendencia a mejorar la ESPM con la inclusión de pastura que no se traduce en efectos sobre la SPM, aún con consumos de MO mayores, por lo que esta tendencia debería tratarse con precaución, quizás debería usarse un número mayor de repeticiones ("n") en el experimento.

El parámetro que si mostró diferencias significativas fue la EUN, es posible que este fuera influenciado por el exceso relativo de N que provocó los altos consumos de FF en los tratamientos RTM75, RTM50 y RTM0, ya que cuando la tasa de degradación proteica excede la tasa de carbohidratos fermentados, grandes cantidades de N pueden ser perdidas como NH_3 que no logra ser captado para la SPM (Nocek y Russell, 1988). Los excesos provocados por esta situación son volcados al ambiente a través de la orina y constituirían un riesgo ambiental, contribuyendo a la eutrofización de las superficies acuáticas, contaminación por nitratos de las napas freáticas, acidez del suelo y puede contribuir al calentamiento global a través de la formación de óxido nitroso (Hirstov, 2011).

CONCLUSIONES E IMPLICANCIAS

Los animales alimentados con menores niveles de RTM presentaron mayores consumos totales de MO debido a un mayor consumo de FF que no sólo compensó, sino que superó la menor ingesta de RTM.

No se lograron detectar diferencias en la SPM o ESPM entre los tratamientos, mientras que los corderos consumiendo RTM100 lograron mayor eficiencia en el uso del N.

Los resultados obtenidos sugieren que en corderos en crecimiento el uso de RTM, tanto solo como en combinación con FF, no sería una opción atractiva frente a la posibilidad de utilizar forraje fresco de alta calidad, lo cual debería ser tenido en cuenta a la hora de plantearse las opciones para los sistemas productivos, sin embargo, es posible el pastoreo directo del FF incluya nuevas variables que afecten los resultados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agricultural and Food Research Council. (1992). Nutritive requirements of ruminant animals: protein. *Nutr Abstr Rev, Series B* 62:787-835.
2. Aguerre M., Cajarville C., Kozloski G., Repetto J. L. (2013). Intake and digestive responses by ruminants fed fresh temperate pasture supplemented with increased levels of sorghum grain: A comparison between cattle and sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 186 (1-2):12-19.
3. Aguerre M, Repetto J, Pérez Ruchel A, Mendoza A, Pinacchio G, Cajarville C (2009). Rumen pH and NH₃-N concentration of sheep fed temperate pastures supplemented with sorghum grain. *South African Journal of Animal Science*, 39:246-250.
4. Akif Karsil M, Russel JR (1999). Ruminant Microbial Protein Synthesis in Sheep Fed Forages of Varying Nutritive Values. *Beef Research Report, Iowa State University*, 14:1-8.
5. Antúnez M, Caramelli A (2009). Variación en la composición química y producción de gas in vitro de pasturas de acuerdo al horario de corte. *Tesis de Grado*. Facultad de Veterinaria, UdelaR: Montevideo, Uruguay. 43p
6. A.O.A.C., 1990. Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of analysis. 15th ed. Arlington VA, AOAC. 1230p.
7. Aurousseau B (2007). Indoor fattening of lambs raised on pasture: (1) Influence of stall finishing duration on lipid classes and fatty acids in the longissimus thoracis muscle. . *Meat Science* , 76:241-252.
8. Balcells J, Guada JA, Castrillo C, Gasa J (1991). Urinary excretions of allantoin and allantoin precursors by sheep after different rates of purine infusion into the duodenum. *J Agric Sci*, 116:309-317.
9. Bargo F, Muller LD, Varg, GA, Delahoy JE, Cassidy TW (2002a). Ruminant digestion and fermentation of high-producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed ration. *Journal of Dairy Science* , 85:2964-2973.
10. Bargo, F, Muller, L.D., Delahoy, J.E., Cassidy, T.W. (2002b). Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J Dairy Sci* 85: 2948–2963.
11. Brito AF, Broderick G, Reynal S (2007). Effects of different protein supplements on omasal nutrient flow and microbial protein synthesis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* , 90(4):1828-1841.

12. Brito AF, Tremblay, GF, Lapierre H, Bertrand A, Castonguay Y, Bélanger G, Michaud R, Benchaar C, Ouellet DR, Berthiaume R. (2009) Alfalfa cut at sundown and harvested as baleage increases bacterial protein synthesis in late-lactation cows. *Journal of Dairy Science*, 92:1092-1107.
13. Broderick G, Reynal S (2009). Effect of source of rumen-degraded protein on production and ruminal metabolism in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* , 92:2822-2834.
14. Carrasco S, Ripoll G, Panea BJ, Á.-R, Joy, M. (2009). Carcass tissue composition in light lambs: influence of feeding system and prediction equations. *Livestock Science* , 126:112-121.
15. Clark J, Klusmeyer T, Cameron MR (1992). Microbial Protein Synthesis and Flows of Nitrogen Fractions to the Duodenum of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 75:2304-2323.
16. Dewhurst R, Davies D, Merry R (2000). Microbial protein supply from the rumen. *Animal Feed Science and Technology* , 85:1-21.
17. DIEA. (2013). *Anuario Estadístico Agropecuario*. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Dirección de Estadísticas Agropecuarias. Disponible en: [http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,754,O,S,0,MNU;E;27;9;MNU;,"](http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,754,O,S,0,MNU;E;27;9;MNU;,) Fecha de consulta: 22 de mayo de 2014
18. DIEA. (2014). *Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Series Históricas*. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/page.aspx?2,diea,diea-series-historicas,O,es,0>, Fecha de consulta: 27 de octubre de 2014
19. Faucitano L, Chouinard PY, Fortin J, Mandell IB, Lafrenière C, Girard C L. (2008) Comparison of alternative beef production systems based on forage finishing or grain-forage diets with or without growth promotants: 2. Meat quality, fatty acid composition, and overall palatability. *J. of Anim. Sci.* , 86:1678-1689.
20. Fonnesebeck P.V., Christiansen M.L., Harris L.E., (1981). Linear models for calculating digestible energy for sheep diets. *J. Anim. Sci.* 52: 1183-1196.
21. Forbes JM (2007) A personal view of how ruminant animals control their intake and choice of food: minimal total discomfort. *Nutrition Research Reviews*, 20, 132-146
22. García SC, Santini FJ, Elizalde JC (2000). Sites of digestion and bacterial protein synthesis in dairy heifers fed fresh oats with or without corn or barley grain. *Journal of Dairy Science* , 83:746-755.

23. Garrett W.N., Meyer J.H., Lofgreen G.P., (1959). The comparative energy requirements of sheep and cattle for maintenance and gain. *J. Anim. Sci.* 18: 528-547.
24. Gill M. (1979). The principles and practice of feeding ruminants on complete diets. . *Grass For Sci* , 34:155-161.
25. Hersom M J (2008). Opportunities to enhance performance and efficiency through nutrient synchrony in forage-fed ruminants. *Journal of Animal Science* , 86:E306-E317.
26. Hirstov AN, McAllister TA, Cheng K (1997). Effect of carbohydrate level and ammonia availability on utilization of alpha-amino nitrogen by mixed ruminal microorganisms. *Proc West Sect Anim Sci* , 48:186-189.
27. Hirstov AN, Hanigan M, Cole A, Todd R, McAllister TA, Ndegwa PM, Rotz A.(2011) Review: Ammonia emissions from dairy farms and beef feedlots. *Canadian Journal of Animal Science*, 91-1:1-35
28. Hirstov AN, Ropp JK, Grande KL, Albedi S, Etter RP, Melgar A(2005). Effect of carbohydrate source on ammonia utilization in lactating dairy cows. *Journal of Animal Science* , 83:408-421.
29. Hume ID (1970). Synthesis of microbial protein in the rumen. *Australian Journal of Agricultural Research*, 21, 305-314.
30. Jarrige R., Grenet E., Demarquilly C., Besle, J.M. (1995). Les constituants de l'appareil végétatif des plantes fourragères. En: Jarrige R., Ruckebusch Y., Demarquilly C., Farce M. H., Journet M. Nutrition des ruminants domestiques ingestion et digestion. Paris, INRA, p. 25-81.
31. Kolver ES (2003). Nutritional limitations to increased production on pasture-based system. . *Proceedings of the Nutrition Society* , 62:291-300.
32. Kolver ES, Muller DL (1998). Performance and nutrient intake of high producing holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*, 91: 1403-1411.
33. Kozloski G.V., Lima L.D., Cadorin Jr. R.L., Bonnacarrère Sanchez L.M., Senger C.C.D., Fiorentini G., Härter C.J. (2008). Microbial colonization and degradation of forage samples incubated *in vitro* at different initial pH. *Anim. Feed Sci. Technol.* 141: 356–367.
34. Lapierre H, Berthiaume R, Raggio, G, Thivierge, MC, Doepel L, Pacheco D 2005. The route of absorbed nitrogen into milk protein. . *Animal Science* 80:11-22.

35. Licitra G., Hernández T.M., Van Soest P.J. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 57: 347.
36. McDonald P, Edwards R, Greenhalgh J, Morga C. (2006). *Nutrición Animal* (6° ed.). Zaragoza: Acribia. 587p
37. Mehrez, AZ., McDonald I (1977). Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. *British Journal of Nutrition* , 38:437-443.
38. Mendoza A, Cajarville C, Colla R, Gaudentti G, Martín MR (2012). Dry matter intake and behavior patterns of dairy cows fed diets combining pasture and total mixed ration. *Journal of Dairy Science* , 95(2):716.
39. Muniz ME, Silva D. (2014) Inclusión de alfalfa en la dieta de ovinos en crecimiento alimentados con una ración totalmente mezclada: Efecto en el comportamiento ingestivo y la tasa de ingestión. *Tesis de Grado*. Facultad de Veterinaria, UdelaR. Montevideo, Uruguay. 35p
40. Murphy TA, D, B. H., Jones, GA., Cheng, KJ (1994). Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *Journal of Animal Science* , 72:3004-3018.
41. Murphy TA, Loerch, SC, McLure KE, Solomon MB (1994). Effects of grain or pasture finishing systems on carcass composition and tissue accretion rates of lambs. *Journal of Animal Science* , 72:3138-3144.
42. National Research Council. (2001). Nutrient requirements of dairy cattle. 7° ed. Washington DC. *National Academy Press*. 381p.
43. NRC, (2007). National Research Council. *Nutrient Requirements in small Ruminants*. Washington, D.C. *The National Academies Press*. 387p
44. Nocek J. E. Russell J. B. (1988) Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *Journal of Dairy Science* 71:2070-2107.
45. Osorio M, Zumalacarregui JM, Figueira A, Mateo J. (2007). Fatty acid composition in subcutaneous, intermuscular and intramuscular fat deposits of suckling lam meat: effect of milk source. *Small Ruminant Research* , 73:127-134.
46. Pérez Ruchel, A. (2010). Tiempo y forma de acceso al forraje y uso de buffers o levaduras: Efecto sobre el aprovechamiento digestivo de la dieta en ovinos. *Tesis de Maestría en Nutrición Animal*. Facultad de Veterinaria, UdelaR.: Montevideo, Uruguay. 100p
47. Pérez Ruchel, A. (2006). pH, amoníaco, ácidos grasos volátiles y producción de proteína microbiana en el rumen de corderos, según el horario de corte de

la pastura. *Tesis de Grado*. Facultad de Veterinaria, UdelaR: Montevideo, Uruguay.44p.

48. Piaggio, L. (2010). Suplementación y engorde a corral. Resultados, desafíos. Necesidades de investigación. *Agrociencia*, 14: 77-81.
49. Piaggio, L., Marichal, M. d., Bentancur, O., Cor, P., Tellechea, V. (2013). Producir Cordero Precoz Pesado de dos genotipos con engorde a corral y dietas de diferente nivel de proteína. *XIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal*. Sup. 1, 208-213.
50. Pomiés, N. (2014). Combinación de diferentes niveles de forraje fresco y ración totalmente mezclada en dietas de vacas lecheras: Efecto sobre el aprovechamiento digestivo. *Tesis de Maestría*. Montevideo: Facultad de Veterinaria. UdelaR. 44p.
51. Puchala R., Kulasek G.W., 1992. Estimation of microbial protein flow from the rumen of sheep using microbial nucleic acid and urinary excretion of purine derivatives. *Can. J. Anim. Sci.* 72: 821-830.
52. Repetto, J. L., & Cajarville, C. (2010). ¿Cómo integramos las pasturas templadas a los nuevos sistemas intensivos de producción de leche y carne? *Agrociencia* , 14:51-53.
53. Repetto, J., Britos, A., Cozzolino, D., Errandonea, N., & Cajarville, C. (2003a). Nutritive value of Lucern and Fescue during autumn I: relationship between water soluble carbohydrates and nitrogen contents throughout the day. *Proceedings of the IX World Conference on Animal Production* , p: 26.
54. Repetto, J., Cajarville, C., D'alessandro, J., Curbelo, A., Soto, C., & Garín, D. (2005). Effect of wilting and ensiling on ruminal degradability of temperate grass and legume mixture. *Animal Research*, 54(2):73-80.
55. Repetto, J., Errandonea, N., Britos, A., Cozzolino, D., & Cajarville, C. (2003b). Changes in water soluble carbohydrate contents during the day in Lucern and Fescue cut in autumn. . *Proceedings of the British Society of Animal Science* , p176.
56. Robertson J.B., Van Soest P.J.(1981).The detergent system of analysis and its application to human food. En:James WPT, TheanderO. (Ed)The analysis of dietary fiber in food. New York, Dekker, pp123-158.
57. Saadoun, A. (2010). Los ácidos grasos como indicadores de la calidad de los productos animales: una apuesta para el futuro. *Agrociencia* , 14:61-62.
58. Sandoval, C. A., & Herrera, F. (1999). Estimación de la síntesis de proteína microbiana en rumiantes a través de la medición de los derivados de purina en orina. *Rev. Biomed* , 10:241-251.

59. Santana, A. (2012). Inclusión de pastura templada en una dieta completa totalmente mezclada para bovinos: Efectos sobre el consumo, el ecosistema ruminal y el aprovechamiento digestivo y metabólico de los nutrientes. *Tesis de Maestría en Nutrición de Rumiantes*. Montevideo, Uruguay. 45 p.
60. Satter, L., & Slyter, L. (1974). Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British Journal of Nutrition*, 32:199-208.
61. Sniffen C.J., O'Connor J.D., Van Soest P.J., Fox D.G., Russell J.B., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* 70: 3562-3577.
62. Stern, M. D., Varga, G. A., Clark, J. H., Firkins, J. L., Huber, J. T., & Palmquist, D. L. (1994). Evaluation of chemical and physical properties of feeds that affect protein metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, 77:2762-2786.
63. Tebot, I. (2008). Efecto de los suplementos ricos en energía sobre la función ruminal y el metabolismo del nitrógeno en ovinos alimentados con forraje fresco. *Tesis de maestría en nutrición animal*. Facultad de Veterinaria. UdelaR: Montevideo, Uruguay. 64p
64. Vibart, R. E., Burns, J. C., & Fellner, V. (2010). Effect of replacing Total Mixed Ration with Pasture on Ruminal Fermentation. *The Professional Animal Scientist*, 26:435-442.
65. Vibart, R. E., Fellner, V., Burns, J. C., Huntington, G. B., & Green, J. T. (2008). Performance of lactating dairy cows fed varying levels of total mixed ration and pasture. *Journal of Dairy Research*, 75:471-480.
66. Wales W.J., Marett L.C., Greenwood J.S., Wright M.M., Thornhill J.B., Jacobs J.L., Ho C.K.M., Auldred M.J., 2013. Use of partial mixed rations in pasture-based dairying in temperate regions of Australia. *Anim. Production Sci.* 53: 1167-1178.
67. Warren, H., Scollan, N., Enser, M., Hughes, S., Richardson, R., & Wood, J. (2008). Effects of breed and a concentrate or grass silage diet on beef quality in cattle of 3 ages. I Animal performance, carcass quality and muscle fatty acid composition. *Meat Science*, 78:256-269.
68. Weatherburn M.W., 1967. Phenol-Hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry* 39: 971-974.
69. Yemm E.W., Willis A.J., 1954. The estimation of carbohydrates in plant extract by anthrone. *Biochem. J.* 57: 508.

