

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**

**EFFECTO DEL TIEMPO DE ACCESO AL FORRAJE FRESCO SOBRE LA  
DIGESTIBILIDAD, LA TASA DE PASAJE Y EL FLUJO DE PROTEÍNA  
MICROBIANA EN VACAS LECHERAS ALIMENTADAS CON UNA RACIÓN  
TOTALMENTE MEZCLADA**

**por**

LÓPEZ, Ramiro  
RESSIO, Federico  
ZAPATER, Fernando

TESIS DE GRADO presentada como uno de los  
requisitos para obtener el título de Doctor en  
Ciencias Veterinarias  
Orientación Producción Animal, Bloque Rumiantes

MODALIDAD Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO**  
**URUGUAY**  
**2016**

## 1. PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

\_\_\_\_\_  
DMTV MSc Alejandro Britos

Segundo miembro (Tutor):

\_\_\_\_\_  
Ing Agr MSc Alejandro Mendoza

Tercer miembro:

\_\_\_\_\_  
DCV MSc Álvaro Santana

Fecha:

\_\_\_\_\_  
11 de julio de 2016

Autores:

\_\_\_\_\_  
Br. Ramiro López

\_\_\_\_\_  
Br. Federico Ressio

\_\_\_\_\_  
Br. Fernando Zapater

## **2. AGRADECIMIENTOS**

Al Ing. Agr. Alejandro Mendoza, por la tutoría de este trabajo y por el respaldo brindado hacia nosotros.

A todo el Departamento de Bovinos y Nutrición Animal de Facultad de Veterinaria, por la ayuda en la realización del trabajo de campo y laboratorio.

A la Facultad de Veterinaria, en especial a la Sección de Biblioteca por la colaboración en la búsqueda del material bibliográfico.

A los compañeros con los que compartimos el trabajo experimental y a todo el personal del Campo Experimental N° 2 (Libertad) de la Facultad de Veterinaria, que facilitaron que nuestro trabajo se pudiera llevar adelante.

A todos aquellos, que apoyaron y fortalecieron nuestro crecimiento como futuros profesionales.

A nuestros amigos, por su incondicional apoyo y a nuestros compañeros de estudio por todos los momentos compartidos.

Por último, queremos agradecerles y dedicarles este trabajo a nuestras familias, por darnos la oportunidad de estudiar y formarnos como personas. Por apoyarnos en los momentos difíciles de la carrera y disfrutar con nosotros los buenos momentos.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
1. PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
2. AGRADECIMIENTOS.....	3
3. LISTA DE TABLAS Y FIGURAS .....	5
4. RESUMEN.....	6
5. SUMMARY .....	7
6. INTRODUCCIÓN.....	8
7. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	10
7.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE LECHE EN URUGUAY .....	10
7.2. ALIMENTACIÓN DE VACAS LECHERAS CON PASTURAS: VENTAJAS Y DESVENTAJAS.....	10
7.3. ALIMENTACIÓN DE VACAS LECHERAS CON RACIONES TOTALMENTE MEZCLADAS: VENTAJAS Y DESVENTAJAS.....	12
7.4. USO DE DIETAS QUE COMBINAN RTM CON PASTURAS: ANTECEDENTES.....	12
7.4.1. EFECTOS SOBRE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA MICROBIANA.....	15
7.4.2. EFECTOS SOBRE LA DIGESTIBILIDAD DE LOS NUTRIENTES.....	13
7.4.3. EFECTOS SOBRE LA TASA DE PASAJE .....	14
8. HIPÓTESIS .....	17
9. OBJETIVOS .....	18
9.1. OBJETIVO GENERAL .....	18
9.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	18
10. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
10.1. ANIMALES, ALIMENTOS Y MANEJO.....	19
10.2. MEDICIONES .....	20
10.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	22
11. RESULTADOS .....	23
12. DISCUSIÓN.....	25
13. CONCLUSIONES.....	28
14. BIBLIOGRAFÍA.....	29

### 3. LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

	Página
Cuadro 1. Ingredientes (base seca) de la RTM.....	20
Cuadro 2. Composición química (base seca) de la RTM y pastura utilizadas.....	20
Cuadro 3. Tasa de pasaje en vacas lecheras alimentadas con una RTM y con diferente tiempo de acceso a un forraje fresco.....	23
Cuadro 4. Digestibilidad aparente de nutrientes en vacas lecheras alimentadas con una RTM y con diferente tiempo de acceso a un forraje fresco.....	23
Figura 1. Flujo de N microbiano a duodeno en vacas lecheras alimentadas con ración totalente mezclada y con diferente tiempo de acceso a un forraje. T0 = 24 h de acceso a RTM; T4 = 4 h de acceso a forraje fresco con 20 h de acceso a RTM; T8 = 8 h de acceso a forraje fresco con 16 h de acceso a RTM. Valor de P de tratamiento = 0,50.....	24

#### 4. RESUMEN

El experimento estuvo basado en la cantidad de horas de acceso a un forraje fresco (raigrás anual; *Lolium multiflorum*) en vacas de raza Holando alimentadas con una ración totalmente mezclada (**RTM**). Nuestros objetivos fueron estudiar, en vacas alimentadas con una RTM, el efecto que tiene la inclusión de un forraje fresco de alta calidad sobre la digestibilidad aparente de los nutrientes, la tasa de pasaje por el tracto digestivo y el flujo de proteína microbiana a duodeno. El experimento se llevó a cabo en el Instituto de Producción Animal de Facultad de Veterinaria. El diseño experimental que se utilizó fue un cuadrado latino 3 x 3 por triplicado con 9 vacas y 3 tratamientos. Estos se definieron de acuerdo a la cantidad de horas de acceso al forraje fresco a partir de las 08:00 h: solo acceso a RTM (**T0**), acceso por 20 h a RTM + 4 h de acceso al forraje fresco (**T4**), y acceso por 16 h a RTM + 8 h de acceso al forraje fresco (**T8**). Los animales se alojaron en bretes individuales en los cuales tuvieron agua *ad libitum*, y se les ofreció la RTM y el forraje fresco, que se cortó y ofreció diariamente a los animales. Las vacas tuvieron un período de adaptación de 10 días y un período de medición de la misma duración. Se realizaron mediciones de tasa de pasaje (usando fibra marcada con cromo) para estimar el tiempo medio de retención en retículo-rumen, ciego-colon y total, flujo de proteína microbiana al duodeno (usando muestras puntuales de orina y estimando la concentración de creatinina y derivados púricos) y la digestibilidad aparente de nutrientes (usando muestras puntuales de heces y usando la concentración de FDN indigestible como marcador interno). Se observó que las vacas T8 tuvieron un mayor tiempo medio de retención total en el tracto digestivo que las vacas T0, no encontrándose diferencias con T4. Referido a la digestibilidad y el flujo de proteína microbiana al duodeno no hubo diferencias entre los tratamientos. Se concluye que, a excepción de la tasa de pasaje, la modificación del tiempo de acceso a un forraje fresco en vacas alimentadas con una RTM no tuvo efectos sobre la digestión de nutrientes.

## 5. SUMMARY

This experiment was based on the addition of fresh forage (annual ryegrass; *Lolium multiflorum*) to a total mixed ration (TMR) diet in Holstein cows. Our goals were study in fed a RTM cows, the effect of the inclusion of high quality fresh forage on the apparent digestibility of nutrients, the rate of passage through the digestive tract and the flow of protein microbial to duodenum. The experiment was carried out at the Institute of Animal Production of Facultad de Veterinaria. Nine cows were assigned to a replicated 3 x 3 Latin square and 3 treatments. These were defined based in the hours of access to fresh forage, starting at 08:00 h: access to TMR only (T0), 20 h of access to TMR + 4 h of access to fresh forage(T4), and 16 h of access to TMR + 8 h of access to fresh forage(T8). The animals were housed in individuals stalls, with *ad libitum* access to water, in addition to TMR and fresh forage, which was daily cut and offered to the animals. Cows had an adaptation period of 10 days followed by a measurement period of 10 days. The following measurements were carried out: passage rate (using Cr-mordanted fiber) to estimate the average retention time in rumen, cecum - colon and complete, microbial protein flow to the duodenum (using urine spot sampling and estimating the creatinine and purine derivatives concentration in urine) and digestibility (using fecal spot sampling and estimating the indigestible FDN concentration as an internal marker). We observed that T8 cows had a longer total mean retention time than T0 cows, but no differences were detected with T4 cows. Referred to digestibility and microbial protein flow to duodenum no differences between treatments were detected. It is concluded that, with the exception of passage rate, modifying the time of access to fresh forage in TMR-fed cows had no effect on nutrient digestion.

## 6. INTRODUCCIÓN

Históricamente en el Uruguay la base alimenticia en la producción lechera ha sido pastoril. Por las características climatológicas y edáficas nuestro país posee ventajas comparativas para la producción y el aprovechamiento de pasturas de alta calidad nutricional con un bajo costo durante todo el año (Cajarville y col., 2012). La principal ventaja de este sistema de alimentación es su bajo costo de producción: adicionalmente, los productos animales obtenidos en estos sistemas, entre ellos la leche, presentan una menor relación ácidos grasos saturados/ácidos grasos insaturados, así como una mayor cantidad de ácido linoleico conjugado y de otros compuestos considerados beneficiosos para la salud humana. También se considera que los animales manejados en sistemas pastoriles tendrían un mejor bienestar animal respecto a si se manejan en sistemas de confinamiento, lo que representa una ventaja que permitiría el acceso a los mercados más exigentes (Cajarville y col., 2012).

Sin embargo, en momentos del año que existe escasez en cuanto a disponibilidad de forraje se debe suplementar con concentrados o forrajes conservados (Mendoza y col., 2011). La suplementación con distintos alimentos también es necesaria si se quiere aprovechar todo el potencial genético de producción de los animales. Además, se ha planteado que en los sistemas lecheros más intensivos del país ya se estarían alcanzando techos de producción a partir de la tecnología disponible en base al uso de pasturas y suplementos como concentrados y reservas forrajeras que se ofrecen separadamente (Durán, 2004), y por lo tanto sería preciso identificar estrategias de alimentación que permitan seguir incrementando la producción.

Por lo expresado antes, la administración de una ración totalmente mezclada (**RTM**) sería una opción para optimizar el rendimiento productivo en los tambos del Uruguay. Las RTM son dietas en las que se mezclan y suministran de forma conjunta los concentrados, forrajes y aditivos. Si la formulación es adecuada y la mezcla se realiza de forma homogénea, el animal ingiere una dieta balanceada que le permite cubrir todas sus necesidades de nutrientes (Lammers y col., 2002). Una ventaja de ofrecer dietas de tipo RTM es que el animal en cada bocado logra obtener una cantidad de nutrientes balanceada, minimizando la selectividad por algún nutriente. Una desventaja de los sistemas que usan RTM es que para su elaboración y utilización se requieren de inversiones de maquinaria como mezcladoras que cuenten con balanzas para pesar con exactitud los alimentos, e instalaciones tanto para almacenar los ingredientes como patios de alimentación donde poder brindar esta dieta, todo lo cual puede aumentar los costos del sistema de producción (Lammers y col., 2002). Adicionalmente, debido al alto contenido de humedad de la pastura es muy difícil incluirla físicamente dentro de una RTM, por lo que deben encontrarse otras estrategias para combinar RTM y pastura como forma de alimentación de vacas lecheras. Una posibilidad es restringir el tiempo de acceso a la pastura y permitir que las vacas se alimenten con RTM en el período restante; esta alternativa es la que se evaluará en el presente trabajo.

Sin embargo, a nivel internacional existe poca información sobre la combinación de pasturas con RTM en vacas lecheras, lo que sería muy importante y práctico para que la lechería pueda seguir intensificándose, de forma de poder competir con otros rubros como la forestación y la agricultura. En particular, son muy escasos los



trabajos que hayan evaluado el impacto de este tipo de dietas mixtas, es decir, dietas que combinan (**RTM** y pasturas), sobre el aprovechamiento digestivo de los nutrientes. Si bien en nuestro país se han realizado trabajos en este sentido, los mismos han sido realizados con vaquillonas en crecimiento (Santana, 2012) u ovinos (Pérez-Ruchel, 2014), con requerimientos de nutrientes muy distintos a los de las vacas lecheras de alta producción. Considerando que el aprovechamiento digestivo de los nutrientes incide sobre el nivel de productividad que puede alcanzar un animal, en este trabajo se propone conocer en mayor profundidad cómo la combinación de RTM y forraje fresco afecta la digestión de los nutrientes en vacas lecheras.

## 7. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 7.1. Caracterización de los sistemas de producción de leche en Uruguay

La producción de leche en Uruguay tradicionalmente se ha basado en el pastoreo directo de gramíneas y leguminosas forrajeras. Esto se ha debido, en gran medida, a que tanto el clima como las características del suelo en nuestro país son propicios para la producción y aprovechamiento de pasturas de buena calidad nutricional, a un bajo costo a lo largo de casi todo el año (Cajarville y col., 2012). Sin embargo, existen momentos del año donde la producción y/o la calidad del forraje producido no son suficientes para cubrir la demanda de nutrientes de los animales, particularmente cuando estos tienen un alto potencial de producción, o los predios manejan una alta dotación animal. En estos casos, es necesario recurrir al uso de suplementos como concentrados y/o forrajes conservados para cubrir el déficit en el aporte de nutrientes que brindan las pasturas (Mendoza y col., 2011).

En Uruguay, en las últimas décadas ha existido un crecimiento productivo que se ha sustentado en el incremento de la producción individual y por unidad de superficie (DIEA, 2015). Esto ha sido resultado del aumento en la cantidad de concentrados, y en menor medida reservas forrajeras, que es consumida por los animales, y de una mayor dotación animal. Sin embargo, existe una gran variabilidad entre sistemas de producción respecto a las cantidades de alimentos que consumen los animales; por ejemplo, datos de INALE (2016) muestran que dentro de los sistemas que alcanzan entre 8000 y 9000 L/ha vaca masa al año, en algunos la proporción de pastura en el total consumido varía entre 50 y 60% (Artagaveytia, 2016).

Sin embargo, la posibilidad de expansión física de los sistemas lecheros y de producción animal en general se ha visto limitada por el crecimiento de otros rubros como la forestación y la agricultura (DIEA, 2015). Por lo tanto, es preciso estudiar alternativas de alimentación que permitan mantener la competitividad de estos sectores frente a estos otros rubros, a través de un continuar aumentando la productividad y la eficiencia de los sistemas de producción de leche.

### 7.2. Alimentación de vacas lecheras con pasturas: Ventajas y desventajas

Las pasturas templadas, mezcla de gramíneas y leguminosas, son alimentos de alta calidad nutricional que tienen como características principales una elevada digestibilidad de la MO, explicada en gran medida por una alta digestibilidad de las paredes celulares, y un alto contenido de proteína, la cual es muy degradable en el rumen, y de forma rápida; estas características varían según el estado fenológico de las pasturas, la estación del año, e incluso el momento del día (Repetto y Cajarville, 2009). De acuerdo con Bargo y col. (2003), las pasturas templadas de alta calidad tienen un contenido de MS de entre 18 y 24%, un contenido de proteína cruda de entre 18 y 25% y un contenido de fibra detergente neutro de entre 40 y 50%.

Dentro de las virtudes de la alimentación en base a pasturas también se mencionan los bajos costos de producción y los beneficios indirectos que conllevan para la salud humana. Esto se debe a que la leche producida por vacas consumiendo pasturas presenta características nutricionales beneficiosas para la salud humana,

incluyendo una disminución en la relación ácidos grasos saturados/ácidos grasos insaturados (Dewhurst y col., 2000), y un aumento en los niveles de CLA tanto en la leche como en la carne, particularmente del isómero cis-9, trans-11, que tendría propiedades anti-carcinogénicas y anti-aterogénicas (Cajarville y col., 2012). Además, es importante considerar que los sistemas pastoriles pueden tener beneficios sobre la salud de los animales, respecto a los sistemas de confinamiento, ya que se considera que promueven un mayor bienestar a los mismos, lo que además representa ventajas en la comercialización de productos y subproductos abriendo puertas a mercados exigentes (Cajarville y col., 2012).

Sin embargo, las vacas lecheras de elevada producción, cuando son alimentadas únicamente con pasturas templadas de alta calidad, tienen como restricción que la cantidad y calidad que se les ofrece no es constante a lo largo del año, sino que varía de acuerdo a las estaciones climáticas; por ejemplo, existe una baja producción de forraje en invierno y disminución de la calidad de nutrición en verano. Debido a esto, muchos productores se ven obligados a suplementar a sus animales para así poder cubrir sus necesidades de nutrientes y reflejar su potencial genético (Mendoza y col., 2011).

Otra limitante que existe bajo estas condiciones es el menor consumo de MS que pueden lograr los animales, debido en parte al contenido elevado de paredes celulares en este alimento, lo que determina que el consumo potencial se vea limitado por un efecto de llenado, o bien al elevado contenido de agua, que causa una distensión física a nivel ruminal y de forma similar conduce a una limitación de la capacidad de ingestión (Kolver, 2003). Asimismo, la rutina diaria de manejo de los animales puede limitar el tiempo efectivo que los animales tienen acceso a la pastura, y desde este punto de vista también puede limitar el consumo voluntario. Además, el animal deberá realizar un mayor gasto de energía buscando, seleccionando y cosechando la pastura, a lo que se le suma el gasto energético debido a la caminata que realizan los animales entre la sala de ordeño y la pastura. Esto conduce a una disminución en la producción de leche que puede ir acompañada de una alteración en sus componentes, especialmente la grasa, el cual depende de la producción del ácido acético que esta determinada por el contenido de fibra; si bien serían esperables mayores contenidos en sistemas de alimentación a base de pasturas, la menor ingesta de alimento, asociada a los altos contenidos de azúcares solubles, pueden determinar bajos niveles de grasa en leche respecto a sistemas que usan dietas con mayor cantidad de concentrado (Bargo y col., 2002a). Esta alteración también se ve provocada por el desajuste entre los requerimientos y la oferta de nutrientes, lo que perjudica el desempeño productivo y reproductivo de los animales (Meikle y col., 2013).

También a partir de datos generados a nivel país, parecería haber un límite para la producción que se puede lograr a partir del uso de pasturas templadas y con estrategias tradicionales de suplementación con concentrados en la sala de ordeño y reservas forrajeras fuera de la misma; esto sugiere que es indispensable continuar progresando en cambios tecnológicos para alcanzar nuevas metas productivas sin perder la competitividad (Durán, 2004).

### 7.3. Alimentación de vacas lecheras con raciones totalmente mezcladas: Ventajas y desventajas

Las RTM son un sistema de alimentación donde los forrajes y alimentos concentrados son formulados y completamente mezclados, y de esta forma son ofrecidos a los animales. De esta manera se reduce la selectividad y cada bocado que consume la vaca contiene la cantidad correcta de ingredientes para una alimentación balanceada, permitiendo al animal ingerir lo más cercano posible a sus requerimientos. Esto genera un ambiente ruminal más estable, y permitiría lograr una mayor eficiencia en la digestión de los nutrientes respecto a si se administraran los forrajes y concentrados de forma separada (Lammers y col., 2002). Este sistema de alimentación permite un control más exacto de cada ingrediente y a su vez, mayor precisión en la formulación y distribución de la ración. Además, la RTM se puede suministrar en los comederos de los animales con diferentes máquinas de mezclado y transporte como mixers. Al combinarse todos los alimentos en una RTM, se pueden enmascarar sabores que provienen de ingredientes menos palatables (Lammers y col., 2002).

Como consecuencia de lo anterior, ha quedado en evidencia que el suministro de RTM puede aumentar la producción de leche en comparación con la oferta de pasturas, concentrados y reservas forrajeras que se ofrecen de forma separada a lo largo del día, además de que disminuiría la incidencia de trastornos a nivel digestivo y metabólico (Lammers y col., 2002). Por ejemplo, Kolver y Muller (1998) compararon vacas de alta producción consumiendo sólo pastura con vacas consumiendo sólo RTM. Estos autores concluyeron que consumiendo solo TMR las vacas produjeron más leche, debido a la mayor ingestión de MS por día. Estos resultados permiten concluir que las diferencias productivas observadas entre animales alimentados sólo con RTM respecto a sólo con pasturas, se explicarían en gran medida por diferencias en el consumo de los animales a favor de los alimentados sólo con RTM. Por eso, está aceptado que, bajo condiciones de pastoreo, el menor consumo de nutrientes (particularmente energía) que las vacas pueden alcanzar cuando son alimentadas con pastura en lugar de RTM, lleva a que el potencial de producción de leche no se alcance completamente (Kolver, 2003).

Por otro lado, cuando la alimentación de las vacas lecheras se basa en el uso de RTM es necesario realizar inversiones en mezcladoras y maquinarias, además de costear su mantenimiento y equipamiento, lo que determina un aumento en los costos. También debe contratarse personal idóneo que conozca como formular, mezclar, manejar los equipos y suministrar la RTM. También se precisa contar con infraestructura adecuada, como por ejemplo comederos en buen estado y lugares para el almacenamiento de la comida. Por todo lo anterior, este método de alimentación a base de RTM no se justificaría por razones económicas para grupos pequeños de animales, ya que incrementa los costos del sistema de alimentación (Lammers y col., 2002).

### 7.4. Uso de dietas que combinan RTM con pasturas: Antecedentes

La investigación de los aspectos nutricionales y metabólicos de alimentar animales con RTM combinadas con pasturas templadas es necesaria para identificar estrategias que permitan aumentar la productividad de este tipo de sistemas de

alimentación, aprovechando de forma simultánea las ventajas que presenta la alimentación de rumiantes a partir de RTM y de pasturas.

Varios autores han propuesto un sistema de alimentación que involucra el uso de dietas RTM y pasturas, denominándolo ración parcialmente mezclada (**RPM**), ya que la pastura no es una parte física dentro de la RTM (Bargo y col., 2002a). Esta metodología mantendría parte de los beneficios de utilizar una RTM, en términos de usar un alimento capaz de maximizar el consumo animal, como parte de las ventajas de suministrar pasturas templadas de alto nivel nutricional, sumado a los bajos costos que conlleva la misma. Por citar un ejemplo, se ha visto en vacas a pastoreo, que la producción de grasa es mayor cuando se suplementan con una RTM respecto a si la misma cantidad de suplemento se ofrece de forma separada (concentrado en la sala de ordeño y reservas forrajeras fuera de la misma), y que esto estuvo asociado a un ambiente ruminal más estable (por ejemplo, con menos variaciones en el pH ruminal, y valores promedio más altos al usar RTM como suplemento) (Wales y col., 2013).

Algunos autores han reportado una mayor producción de las vacas cuando se alimentan con una RPM en vez de con pasturas y concentrados (Bargo y col., 2002a). Desde un punto de vista nutricional, la mayor producción de las vacas alimentadas en el primer caso se explicaría por el mayor consumo de MS que logran los animales (Bargo y col., 2002a). Sin embargo, esta mejora en el comportamiento productivo de los animales alimentados con una RPM podría deberse no solo a cambios en la cantidad ingerida de nutrientes, sino también a cambios en la digestión ruminal y fermentación de los alimentos. Sin embargo, es muy escasa la información publicada en este sentido, y la misma se resume a continuación.

#### 7.4.1. Efectos sobre la digestibilidad de los nutrientes

La digestibilidad aparente de los alimentos se define como la cantidad que no se excreta en las heces, y que por tanto, se considera absorbida por el animal. En general se expresa en relación con la MS, como coeficiente o porcentaje (McDonald y col., 2006).

La digestibilidad de la dieta está determinada por la tasa y extensión de la degradación de cada sustrato (digestibilidad específica de cada alimento), sus proporciones en la misma y las interacciones entre ellos. Las pasturas templadas tienen elevada digestibilidad de la MS (>60%), comparable a la de diversos concentrados energéticos (Cajarville y col., 2012).

Son escasos los trabajos que han reportado como varía la digestibilidad de los nutrientes en rumiantes alimentados con RTM y forraje fresco. Bargo y col. (2002b) evaluaron el efecto de la inclusión de una pastura templada en dietas RTM para vacas lecheras, y no encontraron diferencias en la digestibilidad aparente de la MS total entre dietas basadas solamente en RTM, o RTM con acceso a pasturas durante 9 h al día.

En otro trabajo se determinó que la digestibilidad de la MO disminuyó a medida que la proporción de alfalfa fresca aumentó en la dieta de ovinos alimentados con una RTM, y que esto estuvo asociado al mayor consumo de MS de esos animales. Es

posible que, para poder aumentar el consumo, los corderos hayan aumentado la velocidad de tránsito por el tracto digestivo, lo que habría conducido a un menor tiempo de contacto del alimento con las enzimas microbianas y digestivas, lo que podría haber determinado la caída en la digestibilidad (Pérez-Ruchel, 2014).

Santana (2012) realizó un experimento con vaquillonas que fueron sometidas a 3 tratamientos: acceso sólo a una RTM, acceso sólo a forraje fresco (trébol blanco y trébol rojo), y acceso durante 18 h a RTM más 6 h de acceso al forraje fresco. No se evidenciaron cambios en la digestibilidad de la MS y MO entre tratamientos, si bien la digestibilidad de la FDA y FDN fue mayor para el tratamiento con acceso sólo a forraje fresco respecto a los demás.

Otros trabajos han estudiado estas variables a través de procedimientos *in vitro*. Por ejemplo, Vibart y col. (2010) trabajaron con fermentadores *in vitro*, donde evaluaron 4 tratamientos diferentes: sólo RTM, y los demás con RTM y un aumento gradual en la inclusión de forraje fresco (raigrás anual). Los autores observaron que al incrementar la proporción de forraje fresco en la dieta, aumentó la digestibilidad total del alimento incubado. Por otra parte, Soder y col. (2013) también trabajando con fermentadores *in vitro*, compararon dietas sólo a base de RTM, sólo con forraje fresco, o con 50% RTM y 50% de forraje fresco. Los autores concluyeron que la adición de RTM en la dieta disminuyó la digestibilidad de la MO, MS y FDN, lo que estuvo asociado a un menor pH a mayor proporción de RTM en la MS incubada.

#### 7.4.2. Efectos sobre la tasa de pasaje

Martz y Belyea (1986) señalaron que la tasa de pasaje está directamente influenciada con el tamaño de la partícula de forraje, y que para pasar a través del rumen es necesario que éste sea menor a 1200  $\mu\text{m}$ , ya que de lo contrario es regurgitado para rumiarse. Otros factores todavía no claramente establecidos que pueden influenciar en la tasa de pasaje son: la densidad de las partículas, contenido en pared celular del forraje, pH y presión osmótica, distensión del rumen y abomaso, fuerza y frecuencia de las contracciones ruminales y abomasales y la consistencia de la ingesta.

La tasa de pasaje de la porción particulada de la digesta puede afectar la producción de proteína microbiana (**PM**), como consecuencia a la necesidad de unión de los microorganismos a las partículas (Hoover y Stokes, 1991). Teóricamente, para maximizar la síntesis de PM (**SPM**), la tasa de pasaje tendría que ser idéntica al tiempo de división de los microorganismos, que es distinto para cada especie de los mismos (McDonald y col., 2006). Esa condición aseguraría la utilización de una mínima cantidad de energía para el mantenimiento de los microorganismos. Sin embargo, algunos autores reportaron la influencia negativa de una rápida tasa de pasaje en la eficiencia de utilización de la energía por el animal, por el menor tiempo en que el alimento está sometido a la influencia de los microorganismos en el rumen y las enzimas digestivas en el tracto digestivo (Firkins y col., 1986). Por esta razón es que se ha reportado que a medida que aumenta la tasa de pasaje, la digestibilidad de los alimentos consumidos por el rumiante disminuye (McDonald y col., 2006). Sin embargo, también es cierto que una tasa de pasaje más elevada permite una más rápida evacuación del contenido ruminal y posibilita que el animal

ingiera más alimento (Chilibroste, 1998), lo que en parte podría compensar la menor digestión del mismo a lo largo del tracto digestivo.

Según Kolver (2003), a pesar de la elevada calidad de las pasturas templadas, los animales no consiguen obtener su óptimo potencial productivo cuando son alimentados sólo con estas pasturas. Entre las diversas causas posibles, se indica el impedimento físico que sería causado por una lenta tasa de pasaje del alimento por el tracto digestivo y la gran cantidad de agua ingerida con la pastura (Dillon, 2006). Esto determinaría que el animal debiera esperar a que el rumen se evacuara antes de poder seguir ingiriendo alimento.

Si bien el conocimiento de la tasa de pasaje del alimento a través del tracto digestivo es muy importante para predecir la disponibilidad de nutrientes para el animal, son muy pocos los trabajos que hayan reportado esta variable en rumiantes alimentados con una RTM y pastura. Uno de estos trabajos es el de Pérez-Ruchel (2014). En este trabajo realizado con corderos, se evaluaron los siguientes tratamientos: 100% RTM, 75% RTM y 25% alfalfa fresca, 50% RTM con 50% alfalfa fresca y el último sólo alfalfa fresca. Se reportó que si bien las tasas de salida de partículas desde el rumen y ciego-colon fueron similares entre tratamientos, el tiempo medio de retención de las partículas de alimento a lo largo del tracto gastrointestinal presentó un comportamiento cuadrático, observándose menores tiempos de retención para las dietas puras y mayores para las combinaciones de RTM y forraje fresco.

#### 7.4.3. Efectos sobre la síntesis de proteína microbiana

Las proteínas celulares del organismo se encuentran en continuo recambio en el cual son sintetizadas y degradadas sustancias proteicas. El metabolismo del nitrógeno es un aspecto clave en la fisiología digestiva de los rumiantes. Algunas investigaciones se han centrado en los mecanismos mediante los cuales los rumiantes ejercen su ventaja evolutiva, utilizando diversas fuentes de nitrógeno inorgánico para producir proteína verdadera, gracias a la simbiosis establecida con la biota ruminal (Bach y col., 2005).

El amoníaco producido a partir de la degradación de las proteínas en el rumen, así como algunos péptidos sencillos y aminoácidos libres, son utilizados por los microorganismos del rumen (McDonald y col., 2006), aprovechando las porciones que se degradan en el órgano para sintetizar su propio soma, logrando de esta manera incrementar la población de microorganismos, que luego serán digeridos y posteriormente absorbidos en el tracto gastrointestinal (Church, 1993).

La principal fuente de proteína para el rumiante es la proteína microbiana, la cual es de elevado valor biológico y digestibilidad intestinal, y que aporta más de la mitad de los aminoácidos absorbidos por los rumiantes (Dewhurst y col., 2000). Para obtener una elevada síntesis de proteína microbiana es necesaria la sincronización del abastecimiento de nutrientes energéticos y nitrogenados al rumen de forma simultánea (Repetto y Cajarville, 2009).

Church (1993) sostiene que un aumento en la dieta de la concentración de carbohidratos no estructurales origina un incremento de la densidad de energía de la misma. En general, éstos fermentan rápidamente (si bien una fracción del almidón

pasa al intestino sin ser degradado en el rumen), lo que permite una mayor disponibilidad de energía para los microorganismos, permitiendo así una mayor síntesis de proteína microbiana, si la disponibilidad de nitrógeno no es limitante.

Hoekstra y col. (2007) demostraron que la eficiencia de transferencia de N a producto, que es baja en vacas alimentadas con RTM, es aún menor cuando son alimentadas con pasturas templadas. Posiblemente esto es debido a la alta concentración de proteína soluble en las mismas, y a un probable déficit de sincronización entre el aporte de N y carbohidratos para los microorganismos del rumen. Por eso, al combinar pasturas y RTM, se podría esperar que el exceso de nitrógeno amoniacal ruminal, generado por la ingestión de pasturas templadas (cuya proteína es de alta degradabilidad ruminal, según Repetto y Cajarville, 2009) fuera captado en mayor medida y utilizado junto con los carbohidratos de rápida degradación presentes en el rumen, lo que conduciría a una eficiencia mayor en la síntesis de proteína microbiana y una disminución en la excreción de nitrógeno. Este efecto podría ser similar a cuando se suplementa una pastura con un concentrado energético de tipo almidonoso (Bargo et al., 2003).

Vibart y col. (2010) realizaron un experimento in vitro para estudiar el efecto de dietas que combinan forraje fresco y RTM sobre la producción de N microbiano. Los autores reportaron que el incremento de la proporción de raigrás anual en una dieta de tipo RTM (de 40 a 67%, en base seca) redujo la producción de metano, y aumentó tanto la síntesis como la eficiencia de síntesis de proteína microbiana. Esto se explicaría por un mejor aprovechamiento del nitrógeno disponible por los microorganismos del rumen.

Bargo y col. (2002a) evaluaron tres tratamientos en vacas lecheras, basados en el uso de una RTM, RTM y pastura, o pastura más concentrado, y reportaron que no hubo efecto de estos tratamientos sobre la relación alantoína - creatinina en orina, que es un indicador indirecto del flujo de microbiana a duodeno, indicando que el mismo no se habría visto afectado por la estrategia de alimentación.

Por otra parte, Pérez-Ruchel (2014) realizó un experimento con corderos en crecimiento, que fueron alimentados con niveles crecientes de inclusión de alfalfa fresca en una RTM, donde evaluó el balance de N y la síntesis de N microbiano en rumen. Se concluyó que, si bien se detectaron altas concentraciones de amoníaco ruminal para los niveles más elevados de alfalfa en la dieta, estas diferencias no se vieron reflejadas en un mayor flujo de N microbiano en los animales.

En otro experimento, Santana (2012) evaluó el impacto de la inclusión de forraje fresco en una dieta RTM en vaquillonas sobre distintas variables relacionadas al consumo y el aprovechamiento digestivo de los nutrientes. Algunas de sus conclusiones fueron que el flujo de N microbiano fue menor en animales alimentados sólo con forraje fresco respecto a sólo RTM, o RTM más forraje fresco, lo que pudo estar asociado al menor consumo de nutrientes en el primer caso. Asimismo, detectó una menor eficiencia de síntesis de PM en los animales alimentados sólo con forraje fresco respecto a sólo con RTM, pero los alimentados con la dieta mixta no tuvieron diferencias con ambos tratamientos.



## **8. HIPÓTESIS**

En vacas lecheras alimentadas con una ración totalmente mezclada, aumentar la cantidad de horas de acceso a un forraje fresco de alta calidad causará una menor tasa de pasaje, un aumento de la digestibilidad, y un menor flujo de proteína microbiana al duodeno.

## **9. OBJETIVOS**

### **9.1. OBJETIVO GENERAL**

Estudiar el efecto que tiene la cantidad de horas de acceso a un forraje fresco de alta calidad sobre la digestión de vacas lecheras alimentadas con una dieta basada en una ración totalmente mezclada.

### **9.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Estudiar, en vacas lecheras alimentadas con una ración totalmente mezclada el efecto que tiene la cantidad de horas de acceso a un forraje fresco de alta calidad sobre:

- La digestibilidad aparente de los nutrientes
- La tasa de pasaje por el tracto digestivo
- El flujo de proteína microbiana a duodeno.

## 10. MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el Instituto de Producción Animal de la Facultad de Veterinaria, ubicado en el campo experimental N°2 en Libertad (Ruta 1, Km 42, San José, Uruguay). Todos los procedimientos realizados con los animales fueron aprobados por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal de la Universidad de la República.

### 10.1. ANIMALES, ALIMENTOS Y MANEJO

Para este experimento se seleccionaron 9 vacas Holando en lactación y multíparas, pertenecientes al Campo Experimental N°2. Se las agrupó en 3 grupos según días de lactancia ( $100 \pm 25$  días), producción en la lactancia previa ( $7079 \pm 1226$  litros), y el peso vivo ( $572 \pm 76$  Kg). Al azar, se agruparon los animales a cada cuadro, con el fin de realizar los siguientes tratamientos de acuerdo a un diseño de cuadrado latino 3 x 3 triplicado:

- RTM ofrecida sin restricción en la cantidad durante 24 h (**T0**)
- pastura ofrecida sin restricción en la cantidad por 4 h, más RTM ofrecida sin restricción en la cantidad por 20 h (**T4**)
- pastura por 8 h ofrecida sin restricción en la cantidad, más RTM ofrecida sin restricción en la cantidad por 16 h (**T8**)

Las vacas permanecieron en cada tratamiento por un período de 20 días, los cuales los 10 primeros fueron de adaptación y los últimos 10 días de mediciones. Durante el transcurso del experimento, los animales estuvieron alojados en bretes de manera individual y dispusieron de un comedero y bebedero. Las vacas se ordeñaron por la mañana, las 0700 h y en la tarde a las 1700 h.

La RTM fue formulada de acuerdo a las recomendaciones del NRC (2001) para cubrir los requerimientos de una vaca de 600 kg de peso con una producción de 35 litros de leche al día (Cuadro I y II). En el tratamiento T0, la RTM se ofreció durante todo el día. El forraje fresco utilizado fue un raigrás anual (*Lolium multiflorum*) en estado vegetativo (Cuadro II), que se cortó a diario a las 07:00 h, y se ofreció en los comederos individuales en una única sesión de 08:00 a 12:00 h, en el tratamiento T4. En el tratamiento T8 el forraje fresco se ofreció en una única sesión, de 08:00 a 16:00 h. La RTM se ofreció entre las 12:00 y 08:00 h para el tratamiento T4, y entre las 16:00 y 08:00 h para el tratamiento T8. En todo momento los animales tuvieron acceso al agua.

### Cuadro 1. Ingredientes (base seca) de la RTM

	Porcentaje
Ensilaje de maíz	45,2
Grano de maíz	31,6
Harina de soja	21,3
Bicarbonato de sodio	0,6
Fosfato dicálcico	0,4
Urea	0,3
Carbonato de calcio	0,2
Cloruro de sodio	0,2
Óxido de magnesio	0,2
Premezcla de vitaminas y minerales traza <sup>1</sup>	0,04
Secuestrante de micotoxinas <sup>2</sup>	0,04
Monensina <sup>3</sup>	0,01

<sup>1</sup>Rovimix<sup>®</sup> Lecheras, DSM Nutritional Products Ltd. Basilea, Suiza.

<sup>2</sup>Mycofix<sup>®</sup> Plus, Biomin Innovative Animal Nutrition GmbH, Gerzoemburg, Austria.

<sup>3</sup>Rumensin<sup>®</sup> 100 Premix, Elanco Animal Health, Greenfield, EEUU.

### Cuadro 2. Composición química (base seca) de la RTM y pastura utilizadas (media ± desvío estándar)

%	Alimentos	
	RTM	Pastura
<b>MS</b>	35,8 ± 2,9	15,3 ± 0,7
<b>MO</b>	92,0 ± 0,3	90,1 ± 0,2
<b>PB</b>	16,1 ± 0,3	17,1 ± 0,9
<b>FDN</b>	40,3 ± 3,3	47,1 ± 2,6
<b>FDA</b>	22,9 ± 0,8	26,5 ± 2,2

MS: Materia seca; MO = Materia orgánica; PB: proteína cruda; FDN: fibra detergente neutro; FDA: fibra detergente ácido.

## 10.2. MEDICIONES

### *Composición química de los alimentos*

Las muestras de alimentos se secaron en estufa durante 48 h a 60°C para determinar MS y luego se molieron en un molino de rotor provisto de criba de 1 mm (Fritsch GMBH, Idar-Oberstein, Alemania). Se determinaron Cenizas y Proteína Bruta según los métodos 942.05 y 984.13 respectivamente de AOAC (1990). La MO se calculó por diferencia (% MO = 100 - % de Cenizas). Las determinaciones de FDN y FDA se realizaron de acuerdo al método propuesto por Van Soest y col. (1991) usando un analizador de fibra ANKOM220 (ANKOM Technology Corp., Macedon, NY, USA), con  $\alpha$ -amilasa termoestable, y expresadas con la ceniza residual incluida.

### *Digestibilidad*

La digestibilidad se estimó para cada animal usando el dato de FDN indigestible de la forma sugerida por Huhtanen y col. (1994). Los días 12 y 13 de cada período se tomaron dos muestras puntuales de heces (de 200 g aproximadamente cada una), directamente del recto, 4 h antes y 4 h después del inicio de la primera oferta de

comida a las 0800 h. Una vez obtenidas las muestras identificadas éstas se congelaron a -20°C.

Las muestras se descongelaron a temperatura ambiente, fueron secadas a 60°C y se molieron a 1 mm. Una vez secas, se mezclaron las 4 submuestras de heces para formar un pool por vaca y por período (modelo F57; Ankom Technology Corp., Fairport, NY, EEUU), de 10 x 20 cm, con una relación de 10-15 mg/cm<sup>2</sup>, y con poros de 30-50 µm, previamente secadas en la estufa. También se llenaron bolsas con muestras de forraje fresco y RTM, que fueron procesadas de la misma forma que para las heces. Todas las bolsas se incubaron durante 12 días consecutivos, en el rumen de dos vacas alimentadas con una dieta compuesta por heno de gramíneas, concentrado comercial y sales minerales. Una vez que las bolsas fueron retiradas del rumen, fueron lavadas y posteriormente secadas a 60°C en la estufa. Al retirarlas se pesaron y su contenido se utilizó para realizar el análisis de FDN (Van Soest y col., 1991).

La excreción de heces de cada animal (kg MS/día) se estimó dividiendo el consumo diario de FDN indigestible entre su concentración en las heces, según la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Consumo FDN indigestible (g/día)}}{\text{Concentración de FDN indigestible en heces (g/kg MS)}}$$

Los coeficientes de digestibilidad aparente de la MS y MO, N, FDN y FDA en todo el tracto digestivo se calcularon como:  $([\text{consumo (g/día)} - \text{excreción fecal (g/día)}] / \text{consumo (g/día)}) \times 100$ . Los datos de consumo de nutrientes se tomaron de Duvós y col. (2013).

#### *Tasa de pasaje*

La tasa de pasaje se estimó a partir de la excreción de cromo en las heces de los animales. Para ello, se preparó fibra marcada con cromo de la forma indicada por Udén y col. (1980), que fue administrada el día 14 de cada período a razón de 150 g por vaca, en una única vez, antes de comenzar a ofrecer la primera comida diaria (0800 h). Se anotó la hora 0 cuando el animal terminó de ingerir la fibra, y al mismo tiempo se tomó la primera muestra de heces directamente del recto; luego se siguió con la rutina de alimentación diaria. Además de la muestra obtenida a la hora 0, se tomaron muestras de heces de la forma ya descrita a las siguientes horas: 6, 9, 12, 24, 30, 34, 38, 42, 48, 60, 72, 96, 120 y 144.

Al finalizar, las muestras se congelaron a una temperatura de -20°C. Las muestras se secaron a 60 °C y molieron a 1 mm, y fueron usadas para determinar el contenido de cromo usando un espectrofotómetro de absorción atómica, según la técnica indicada por Williams y col. (1962). Las curvas de excreción fecal de cromo se ajustaron al modelo propuesto por Dhanoa y col. (1985), que se indica a continuación:

$$Y = A \times e^{-k_1 \times (t - TT)} \times \exp(B \times e^{-k_2 \times (t - TT)})$$

Donde:

Y es la concentración del marcador al momento t (en horas); A es un parámetro de escala dependiente de  $k_1$ ;  $k_1$  es la tasa de salida de partículas desde el retículo-rumen;  $k_2$  es la tasa de salida de partículas desde el ciego-colon; y TT es el tiempo de tránsito, o tiempo entre la dosificación y primer aparición del marcador en la heces. El tiempo medio de retención en retículo-rumen (TMRR) y en ciego-colon (TMRC) se calcularon como  $1/k_1$  y  $1/k_2$ , respectivamente. El tiempo medio de retención total (TMRT) se calculó como  $TMRT = TMRR + TMRC + TT$ .

#### *Flujo de nitrógeno microbiano a duodeno*

Se obtuvieron muestras puntuales de orina los días 12 y 13 de cada período, a las 4 h anteriores y 4 h posteriores al inicio de la primera oferta de alimento a las 0800 h, en frascos conteniendo  $H_2SO_4$  0,072 N como conservante. El conjunto de muestras se congeló a  $-20^\circ C$ .

Una vez descongeladas a temperatura ambiente, se mezclaron las 4 submuestras de orina para formar un pool por vaca y por período. Las muestras fueron usadas para determinar la concentración de alantoína y ácido úrico, y de creatinina, que fue usada para estimar el volumen de orina producido. Se utilizó un equipo HPLC (Ultimate<sup>®</sup> 3000, Dionex, California, USA) y la técnica descrita por Balcells y col. (1992). Con esta información se estimó el flujo de nitrógeno microbiano a duodeno (g/día) usando las ecuaciones propuestas por Chen y Gomes (1992).

### **10.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos de flujo de PM, digestibilidad de nutrientes, y los parámetros que describen la tasa de pasaje fueron analizados con el paquete estadístico SAS (version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), para lo cual se utilizó el siguiente modelo lineal mixto:

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + C_j(S_i) + P_k + T_l + e_{ijkl}$$

donde  $Y_{ijkl}$  es la variable dependiente;  $S_i$  es el efecto aleatorio del cuadrado ( $i = 1$  a  $3$ );  $C_j(S_i)$  es el efecto aleatorio de la vaca anidado en el cuadrado ( $j = 1$  a  $3$ );  $P_k$  es el efecto aleatorio del período ( $k = 1$  a  $3$ );  $T_l$  es el efecto fijo del tratamiento ( $l = T0, T4$  o  $T8$ ); y  $e_{ijkl}$  es el error residual.

Las medias se compararon con el test de Tukey y se usó un nivel de significancia estadística con  $P \leq 0,05$ .

## 11. RESULTADOS

En el siguiente cuadro se presentan los resultados del efecto de los tratamientos sobre la tasa de pasaje de la digesta.

**Cuadro 3. Tasa de pasaje en vacas lecheras alimentadas con una RTM y con diferente tiempo de acceso a un forraje fresco.**

	Tratamientos <sup>1</sup>			EEM	Valor de P
	T0	T4	T8		
$k_1, h^{-1}$	0,063	0,061	0,043	0,0081	0,19
$k_2, h^{-1}$	0,261	0,159	0,184	0,0386	0,22
TT, h	10,1 <sup>b</sup>	12,1 <sup>a</sup>	9,1 <sup>b</sup>	1,74	0,02
TMRR, h	17,3	16,6	24,0	2,91	0,13
TMRC, h	4,0	6,7	6,1	1,07	0,17
TMRT, h	31,4 <sup>b</sup>	35,4 <sup>ab</sup>	39,1 <sup>a</sup>	3,66	0,05

<sup>a-c</sup> Diferentes letras en una misma fila difieren  $P \leq 0.05$  entre tratamientos

<sup>1</sup>T0 = 24 h de acceso a RTM; T4 = 4 h de acceso a forraje fresco con 20 h de acceso a RTM; T8 = 8 h de acceso a forraje fresco con 16 h de acceso a RTM.

.  $k_1$  = tasa de pasaje de la digesta a través de retículo-rumen;  $k_2$  = tasa de pasaje de la digesta a través de ciego-colon; TT = Tiempo de tránsito; TMRR = Tiempo medio de retención en retículo-rumen; TMRC = Tiempo medio de retención en ciego-colon; TMRT = Tiempo medio de retención total

No hubo diferencias entre tratamientos para las variables  $k_1$  y  $k_2$ , TMRR y TMRC. Sin embargo el TMRT fue mayor en T8 respecto a T0, mientras que T4 no fue diferente ni de T0 ni de T8.

En el siguiente cuadro se presentan los resultados al efecto de los tratamientos sobre la digestibilidad aparente de los nutrientes.

**Cuadro 4. Digestibilidad aparente de nutrientes en vacas lecheras alimentadas con una RTM y con diferente tiempo de acceso a un forraje fresco.**

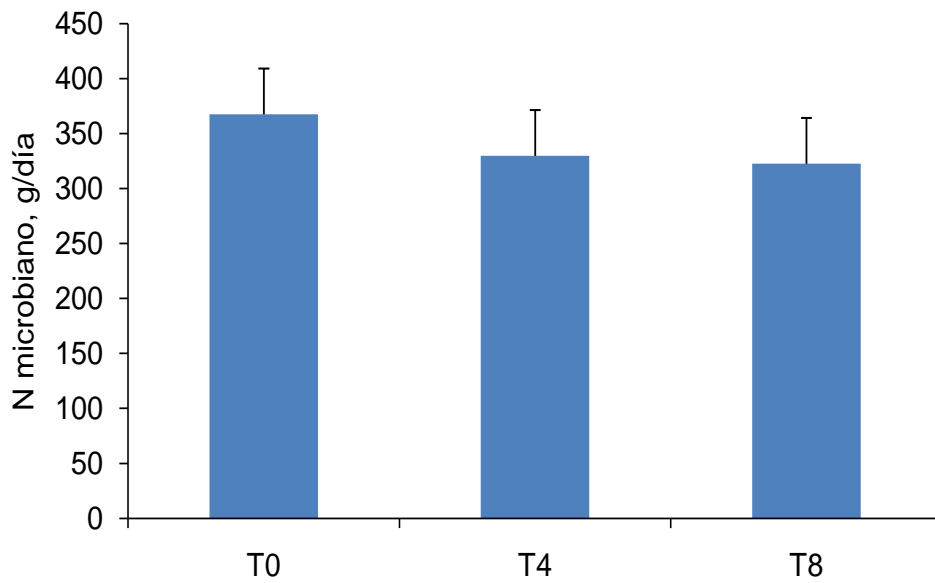
	Tratamiento <sup>1</sup>			EEM	Valor de P
	T0	T4	T8		
MS	58,2	57,4	64,9	5,57	0,27
MO	63,4	62,1	67,6	4,46	0,42
Nitrógeno	55,1	56,7	62,7	8,45	0,11
FDN	53,6	54,3	59,6	6,30	0,56

<sup>a-c</sup> Diferentes letras en una misma fila difieren  $P \leq 0.05$  entre tratamientos

<sup>1</sup>T0 = 24 h de acceso a RTM; T4 = 4 h de acceso a forraje fresco con 20 h de acceso a RTM; T8 = 8 h de acceso a forraje fresco con 16 h de acceso a RTM.

Con respecto a la digestibilidad aparente de la MS, MO, N y FDN no se observaron diferencias significativas entre tratamientos.

En la siguiente figura se presentan los resultados relacionados al efecto de los tratamientos sobre el flujo de N microbiano a duodeno.



**Figura 1.** Flujo de N microbiano a duodeno en vacas lecheras alimentadas con ración totalmente mezclada y con diferente tiempo de acceso a un forraje. T0 = 24 h de acceso a RTM; T4 = 4 h de acceso a forraje fresco con 20 h de acceso a RTM; T8 = 8 h de acceso a forraje fresco con 16 h de acceso a RTM. Valor de P de tratamiento = 0,50. Las barras indican el error estándar de la media.

No hubo efecto de los tratamientos sobre el flujo de N microbiano al duodeno.



## 12. DISCUSIÓN

El mayor valor del TMRT observado en T8 respecto a T0 es coincidente con el mayor consumo de energía y MS que ha sido reportado en este mismo trabajo, pero por otros autores (Duvós y col., 2013). McDonald y col. (2006) señalaron que la tasa de pasaje está directa y positivamente relacionada con el nivel de consumo, y por esta razón es lógico que los animales en T0, con mayor nivel de consumo de energía hayan tenido la mayor tasa de pasaje que se reflejó en un menor TMRT.

Si bien no se alcanzó la significancia estadística, numéricamente el TMRR fue casi 7 h mayor en T8 respecto a T0. Esto podría estar asociado al hecho de que las vacas T8 consumieron una mayor cantidad de FDN, que normalmente demora más tiempo en ser digerida que otras fracciones de los alimentos como el almidón (Duvós y col., 2013). Asimismo, en nuestro experimento el forraje fue cortado con la rotativa a una altura de 10 cm, y el mismo no fue cortado posteriormente; por lo tanto, es posible que el largo de las partículas de fibra (mayor que el de la fibra del ensilaje de maíz de la RTM) haya dificultado que se alcanzara el tamaño mínimo de partícula necesario para escapar del rumen (Martz y Belyea, 1986).

Pérez-Ruchel (2014) observó en un experimento realizado con corderos alimentados solo con RTM, o con niveles crecientes de alfalfa fresca, que si bien las tasas de salida de partículas desde el rumen y ciego-colon fueron similares entre tratamientos, el TMRT de las partículas de alimento a lo largo del tracto gastrointestinal presentó un comportamiento cuadrático a medida que se incrementó el nivel de alfalfa en la dieta, observándose menores tiempos de retención para las dietas puras, y mayores en las dietas mezcla de RTM y forraje fresco. Estos resultados en parte se asemejan a los nuestros, ya que al agregarle forraje a una dieta solo RTM ocurriría un aumento del TMRT.

La digestibilidad aparente de la dieta está determinada por la tasa y extensión de la degradación de cada sustrato (digestibilidad específica de cada alimento), sus proporciones en la misma y las interacciones entre ellos (McDonald y col., 2006). Por ello, en nuestro trabajo se hubiera esperado que la mayor tasa de pasaje observada en T0 hubiera determinado una menor digestibilidad de los nutrientes en el tracto digestivo, debido a la menor exposición de los alimentos a los microorganismos y enzimas en el mismo, aunque esto no ocurrió. Sin embargo, nuestros resultados coinciden con lo reportado por Bargo y col. (2002b), quienes trabajando con vacas lecheras alimentadas con pastura más concentrado, pastura más RTM y sólo RTM, concluyeron que no hubo diferencias en la digestibilidad de la MS, proteína y MO, pero sí en la FDN. Del mismo modo, Santana (2012) trabajando con vaquillonas cruzas alimentadas sólo con RTM, sólo forraje fresco, o una combinación de RTM y forraje fresco, no detectó diferencias en la digestibilidad de la MS y MO entre los tratamientos. Sin embargo, la digestibilidad de la fibra (FDA y FDN) fue mayor para el tratamiento sólo forraje fresco respecto a los otros dos tratamientos.

Por otra parte Pérez-Ruchel (2014), en el trabajo ya descrito, concluyó que a medida que aumentó la proporción de alfalfa en la dieta, los animales tuvieron un mayor consumo de nutrientes, pero una menor digestibilidad de la MO. Estos resultados

difieren con nuestro trabajo y una de las causas podría deberse a la especie animal utilizada (ovina) en su ensayo.

Utilizando un enfoque distinto, Soder y col. (2013) en un experimento realizado con fermentadores *in vitro*, vieron que comparando dietas 100% con RTM o dietas 100% con forraje fresco, hubo una reducción significativa en la digestibilidad de la FND para la dieta 100% RTM, que en parte fue explicado por la alta calidad de la pastura usada.

Tanto Bargo y col. (2002b) como Santana (2012) reportaron una menor digestibilidad de la fibra en los tratamientos que solo incluían RTM, y en el caso del segundo, dicho resultado estuvo asociado a un menor pH ruminal. Esto puede sugerir que dietas 100% RTM con una alta proporción de concentrados pueden predisponer a condiciones más acidóticas que habrían explicado esos resultados; esto estaría asociado a que los ingredientes concentrados incluidos en las RTM son ricos en almidón (ej. Granos de cereales), que a nivel de rumen pueden fermentar de forma extensa y rápida, produciendo una gran cantidad de ácidos grasos volátiles, lo que puede conducir a una depresión del pH ruminal (McDonald y col., 2006). Autores como Van Soest (1994) han señalado que bajo estas condiciones, los microorganismos que digieren la fibra en el rumen se ven afectados, lo que puede reducir su aprovechamiento en el tracto digestivo. Sin embargo, como parte de nuestro experimento, Amaral y col. (2014) reportaron que los pH mínimos en cualquiera de los tratamientos nunca estuvieron por debajo de los valores que comprometen la digestión de la fibra, que han sido establecidos en 6,2 (Mertens, 1997). Por lo tanto es lógico que en nuestro ensayo no hayamos obtenido diferencias en la digestión de la fibra.

Duvós y col. (2013) reportaron que en las vacas T0 de este mismo experimento consumieron más energía, más carbohidratos no fibrosos y más nitrógeno que las vacas T8. Clark y col. (1992) afirman que el consumo de energía y de N son los factores nutricionales que más a menudo limitan el crecimiento microbiano. Por lo tanto, hubiéramos esperado un incremento en el flujo de nitrógeno microbiano al duodeno, dado que existió un mayor aporte de sustratos nitrogenados y energéticos que podrían haber sido utilizados por los microorganismos del rumen, cosa que sin embargo no se evidenció en nuestros resultados.

Santana (2012), en un ensayo ya descrito, observó que el flujo de nitrógeno microbiano a duodeno fue menor para el tratamiento que solo accedía a forraje fresco respecto a los que accedían a RTM, o RTM y forraje fresco. A su vez, la eficiencia de uso de la energía para la síntesis de nitrógeno microbiano fue mayor en el tratamiento sólo RTM respecto al tratamiento sólo forraje fresco. El autor atribuyó las diferencias entre tratamientos al menor consumo de nutrientes en las vaquillonas alimentadas sólo con forraje fresco, que en proporción fueron mayores que entre los tratamientos T0 y T8 en nuestro experimento. Además, el hecho que se haya usado otra categoría y/o raza animal podría explicar parte de las diferencias con nuestro trabajo.

Van Soest (1994) sugirió que la concentración mínima de N-NH<sub>3</sub> en rumen para no comprometer la síntesis de proteína microbiana es de 5-8 mg/dL. Es de destacar que en nuestro experimento nunca se estuvo por debajo de ese valor (Amaral y col.,

2014). Por su parte, Bargo y col. (2002b) no detectaron diferencias en la concentración de amoníaco ruminal en vacas lecheras alimentadas sólo con RTM, o con 30 % de la MS de la dieta aportada por pastura y el resto RTM, lo que en parte podría explicar por qué estos autores tampoco observaron diferencias en el flujo de proteína microbiana a duodeno entre estos tratamientos.

Los resultados sugieren que las diferencias en producción de leche observadas entre tratamientos y reportadas en otro trabajo (De la Quintana y col., 2012) se habrían debido más a diferencias en el consumo de energía y nutrientes, como reportaron Duvós y col. (2013) que a diferencias en cómo se digirieron esos nutrientes. A una conclusión similar llegaron Kolver y Muller (1998), quienes estimaron que 60% de las diferencias en producción de leche entre vacas alimentadas solo con RTM y solo pastura se deberían a diferencias en el consumo de nutrientes.

### **13. CONCLUSIONES**

Se concluye que vacas lecheras alimentadas con RTM y con 8 h de acceso a forraje fresco de alta calidad tuvieron un mayor tiempo medio de retención total de las partículas del alimento en el tracto digestivo respecto a vacas alimentadas solo con RTM. Sin embargo, no hubo efecto del tiempo de acceso al forraje fresco sobre el flujo de proteína microbiana al duodeno o la digestibilidad aparente de los nutrientes.

## 14. BIBLIOGRAFÍA

1. Amaral V, Piroto E, Puig M. (2014) Evaluación del ambiente ruminal en vacas lecheras alimentadas a base de una ración totalmente mezclada y forraje fresco. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. 26 p.
2. AOAC. (1990) Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of analysis. 15th ed. Arlington, AOAC, 1030 p.
3. Artagaveytia J, Giudice G, Pedemonte A, Baraibar M, Gravina V. 2016. ¿Cómo se comportan los sistemas de producción uruguayos? Disponible en: [http://www.inale.org/innovaportal/file/5811/1/sistemas\\_de\\_produccion\\_uruguayos.pdf](http://www.inale.org/innovaportal/file/5811/1/sistemas_de_produccion_uruguayos.pdf). Fecha de consulta: 20/07/2016.
4. Bach A, Calsamiglia S, Stern M.D. (2005). Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 88:(E. Suppl.):E9–E21.
5. Balcells J, Guada JA, Peiró JM. (1992). Short communication: Simultaneous determination of allantoin and oxypurines in biological fluids by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 515:153-151.
6. Bargo F, Muller LD, Delahoy JE, Cassidy TW. (2002a). Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J Dairy Sci* 85:2948–2963.
7. Bargo F, Muller LD, Delahoy JE, Cassidy TW. (2002b) Ruminal digestion and fermentation of high-producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J Dairy Sci* 85:2964–2973.
8. Bargo F, Muller LD, Kolver ES, Delahoy JE. (2003). Invited review: Production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. *J. Dairy Sci.* 86:1–42
9. Cajarville C, Mendoza A, Santana A, Repetto JL. (2012). En tiempo de intensificación productiva, ¿cuánto avanzamos en el conocimiento de los nuevos sistemas de alimentación de la vaca lechera? *Veterinaria (Montevideo)* 48:35-39.
10. Chen XB, Gomes MJ. (1992). Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: An overview of technical details. Aberdeen, Ed. Rowett Research Institute, 21 p.
11. Chilibróste P. (1998). Fuentes comunes de error en la alimentación del ganado lechero en pastoreo: I. Predicción del consumo. XXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp:1-8.
12. Church CD. (1993). *El Rumiante: Fisiología digestiva y nutrición*. Zaragoza, Acribia, 641p.

13. Clark JH, Klusmeyer TH, Cameron MR. (1992). Symposium: Nitrogen metabolism and aminoacid nutrition in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 75:2304-2323.
14. De la Quintana E, Garmendia ME, Mutuberría E. (2012). Variación en la producción y composición de la leche en vacas en confinamiento con inclusión de pasturas. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. 34 p.
15. Dewhurst R, Davues D, Merry R (2000). Microbial protein supply from the rumen. *Anim Feed Sci Technol* 85:1-21.
16. Dhanoa MS, Siddons RC, France J, Gale DL. (1985). A multicompartamental model to describe marker excretion patterns in ruminant faeces. *Br J Nut* 53:663-671.
17. DIEA. (2015). Anuario Estadístico Agropecuario. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Dirección de Estadísticas Agropecuarias. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/page.aspx?2,diea,diea-anuario-2015,O,es,0>, Fecha de consulta: 19/07/2016.
18. Dillon P (2006). Achieving high dry-matter intake from pasture with grazing dairy cows. En: Elgersma, A., Dijkstra, J., Tamminga, S. *Fresh herbage for dairy cattle*. Heidelberg, Springer, p.1-26.
19. Durán H. (2004). Cambios tecnológicos e intensificación en los sistemas pastoriles de producción de leche en Uruguay. Resultados Experimentales en Lechería. Colonia. INIA Actividades de Difusión 361. p. 115-122.
20. Duvós M, Iriarte A, Machiavello N. (2013). Consumo de nutrientes, y perfil metabólico y hormonal en vacas lecheras consumiendo una ración totalmente mezclada con distintas horas de acceso a una pastura templada. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. 32 p.
21. Firkins I, Berger L, Merchen N, Fahey G, Jr, Nelson D (1986) Effects of feed intake and protein degradability on ruminal characteristics and site of digestion in steers. *J Dairy Sci* 69:2111-2123.
22. Hoekstra NJ, Schulte RPO, Struik PC, Lantinga EA. (2007). Pathways to improving the N efficiency of grazing bovines. *Europ J Agron* 26:363–374.
23. Hoover W, Stokes S (1991). Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *J Dairy Sci* 74:3630-3645.
24. Huhtanen P, Kaustell K, Jaakkola S. (1994). The use of internal markers to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. *Anim Feed Sci Technol* 48:211-227.
25. Kolver ES. (2003). Nutritional limitations to increased production on pasture-based systems. *Proc Nut Soc* 62: 291–300.

26. Kolver ES, Muller LD. (1998). Performance and nutrient intake of high producing Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J Dairy Sci*; 81: 1403–1411.
27. Lammers BP, Heinrichs J, Ishler VA (2002). Uso de ración total mezclada (TMR) para vacas lecheras. Departamento de Ciencias Animales, Universidad Estatal de Pennsylvania. Disponible en: <http://www.das.psu.edu/teamdairy/>. Fecha de consulta: 14/02/16.
28. NRC. National Research Council. (2001). Nutrient requirements of dairy cattle. 7a. ed. Washington D.C., National Academy Press. 381 p.
29. Martz FA, Belyea RL. (1986). Role of particles size and forage quality in digestion and passage by cattle and sheep. *J Dairy Sci*; 69: 1996-2008.
30. McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD, Morgan CA. (2006). Nutrición Animal. Digestión. 6ª ed. Zaragoza, Acribia, p. 135-165.
31. Meikle A, Cavestany D, Carriquiry M, Adrien ML, Artegoitia V, Pereira I, Ruprecht G, Pessina P, Rama G, Fernandez A, Breijo M, Laborde D, Pritsch O, Ramos JM, de Torres E, Niccolini P, Mendoza A, Dutour J, Fajardo M, Astessiano AL, Olazábal L, Mattiauda D, Chilbroste P. (2013). Avances en el conocimiento de la vaca lechera durante el período de transición en Uruguay: un enfoque multidisciplinario. *Agrociencia (Uruguay)* 17: 141-152.
32. Mendoza A, Cajaville C, Santana A, Repetto J. (2011). ¿Hacia una nueva forma de pensar la alimentación de las vacas lecheras? La inserción del confinamiento en los sistemas pastoriles de producción de leche. XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp: 82-90.
33. Mertens DR. (1997). Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cattle. *J Dairy Sci*. 80:1463-1482.
34. Pérez-Ruchel A. (2014). Impacto de la inclusión de pasturas frescas de alta calidad en dietas de alto rendimiento de corderos en crecimiento: Efectos en el consumo, digestión y ambiente ruminal. XXIX Curso de Especialización de la Federación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Disponible en: [http://fundacionfedna.org/sites/default/files/2014\\_premios.pdf](http://fundacionfedna.org/sites/default/files/2014_premios.pdf). Fecha de consulta: 16/01/16.
35. Repetto JL, Cajaville C. (2009). ¿Es posible lograr la sincronización de nutrientes en sistemas pastoriles intensivos? XXXVII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay, p: 60-67.
36. Santana A. (2012). Inclusión de pastura templada en una dieta completamente mezclada en vaquillonas: efectos sobre el consumo, el aprovechamiento digestivo y metabólico. Tesis de Maestría en Nutrición de Rumiantes, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay, 44 p.

37. Soder KJ, Brito AF, Rubano MD. (2013). Effect of supplementing orchardgrass herbage with a total mixed ration or flaxseed on fermentation profile and bacterian protein synthesis in continuous culture. *J Dairy Sci*; 96: 3228-3237.
38. Udén P, Colucci PE, Van Soest PJ. (1980). Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. *J Sci Food Agric* 31:625-632.
39. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 74:3583-3597.
40. Van Soest PJ (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant* 2<sup>a</sup> ed. New York: Cornell University.
41. Vibart RE, Burns JC, Fellner V. (2010). Effect of replacing total mixed ration with pasture on ruminal fermentation. *Prof Anim Sci* 26:435–442.
42. Wales WJ, Marett LC, Greenwood JS, Wright MM, Thornhill JB, Jacobs JL, Ho CKM, Auldred MJ. (2013). Use of partial mixed rations in pasture-based dairying in temperate regions of Australia. *Anim Prod Sci* 53:1167–1178.
43. Williams CH, David DJ, Iismaa O. (1962). The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J Agric Sci (Camb)* 59:381-385.