

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**RESTRICCIÓN DEL TIEMPO DE ACCESO AL FORRAJE FRESCO EN  
TERNERAS: EFECTO SOBRE EL ESTADO ENERGÉTICO Y EL PERFIL  
METABÓLICO Y HORMONAL**

por

PERDOMO, María Isabel

SILVERA, Romina

TESIS DE GRADO presentada como uno de  
los requisitos para obtener el título de

Doctor en Ciencias veterinarias

Orientación: Producción Animal y Medicina Veterinaria

MODALIDAD Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO**

**URUGUAY**

**2012**

## PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

\_\_\_\_\_  
Dra. Islamey Tebot

Segundo miembro (Tutor):

\_\_\_\_\_  
Dra. Alicia Félix

Tercer miembro:

\_\_\_\_\_  
Ing. Agr. Ana Laura Astessiano

Cuarto miembro (Co-tutor):

\_\_\_\_\_  
Dra. Cecilia Cajarville

Fecha:

18/12/12

Autores:

\_\_\_\_\_  
Br. M<sup>a</sup> Isabel Perdomo Reyes

Autores:

\_\_\_\_\_  
Br. Romina Silvera Barrios

## **AGRADECIMIENTOS**

A las Dras. Alicia Félix y Cecilia Cajarville por el apoyo y confianza en la realización de este trabajo y por la tutoría y co-tutoría del mismo.

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

A los laboratorios de Nutrición Animal y de Técnicas Nucleares de Facultad de Veterinaria y al Laboratorio de Nutrición Animal de Facultad de Agronomía por permitirnos utilizar sus instalaciones.

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

A nuestras familias en especial a nuestros padres, hermanos y tíos por el cariño y apoyo incondicional que nos brindaron para llevar a cabo esta carrera y a desarrollarnos como personas y profesionales.

A nuestras abuelas y respectivas parejas por el cariño y fuerzas brindadas para seguir adelante.

A todos nuestros amigos y compañeros por el apoyo durante todos estos años.

A todos los bachilleres, amigos y personal del Campo Experimental N° 2 de Libertad con los cuáles llevamos a cabo esta tesis.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>PÁGINA DE APROBACIÓN</b> .....	2
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	3
<b>LISTA DE CUADROS Y FIGURAS</b> .....	5
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	6
<b>RESUMEN</b> .....	7
<b>SUMMARY</b> .....	8
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	9
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	10
<b>LAS PASTURAS TEMPLADAS COMO ALIMENTOS DE LOS RUMIANTES</b> .....	10
<b>UTILIDAD DE METABOLITOS Y HORMONAS COMO INDICADORES DEL ESTADO NUTRICIONAL</b> .....	10
<b>RESTRICCIÓN DEL TIEMPO DE ACCESO A LA PASTURA</b> .....	12
<i>Efectos de la restricción sobre el consumo y el balance energético</i> .....	13
<i>Efectos de la restricción sobre el perfil metabólico y hormonal</i> .....	13
<b>HIPÓTESIS</b> .....	15
<b>OBJETIVOS</b> .....	16
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	16
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	16
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	17
<b>ANIMALES Y DISEÑO EXPERIMENTAL</b> .....	17
<b>ALIMENTOS Y MANEJO</b> .....	17
<b>DETERMINACIONES</b> .....	18
<i>Consumo de energía metabolizable y balance de energía</i> .....	18
<i>Metabolitos y hormonas sanguíneas</i> .....	18
<i>Análisis químico</i> .....	19
<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICOS</b> .....	19
<b>RESULTADOS</b> .....	20
<b>CONSUMO, DIGESTIBILIDAD Y BALANCE DE ENERGÍA</b> .....	20
<b>METABOLITOS Y HORMONAS SANGUÍNEAS</b> .....	20
<i>Glucosa</i> .....	20
<i>Urea</i> .....	20
<i>Insulina</i> .....	22
<i>Glucagón</i> .....	22
<b>DISCUSIÓN</b> .....	24
<b>CONCLUSIONES</b> .....	27

## LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
<b>Cuadro 1.</b> Consumo, digestibilidad y balance de energía en terneras con diferente tiempo de acceso al forraje fresco: 4, 6, 8 o 24 h/día (T4, T6, T8 y T24 respectivamente).....	20
<b>Figura 1.</b> Dinámica de la concentración de glucosa (mg/dL) en terneras con diferente tiempo de acceso al forraje fresco: 4, 6, 8 o 24 h/día (T4, T6, T8 y T24 respectivamente), (media $\pm$ error estándar de la media). La hora 0 indica el momento de inicio de la alimentación.....	21
<b>Figura 2.</b> Dinámica de la concentración de urea (mg/dL) en terneras con diferente tiempo de acceso al forraje fresco: 4, 6, 8 o 24 h/día (T4, T6, T8 y T24 respectivamente), (media $\pm$ error estándar de la media). La hora 0 indica el momento de inicio de la alimentación.....	21
<b>Figura 3.</b> Dinámica de la concentración de insulina ( $\mu$ UI/mL) en terneras con diferente tiempo de acceso al forraje fresco: 4, 6, 8 o 24 h/día (T4, T6, T8 y T24 respectivamente), (media $\pm$ error estándar de la media). La hora 0 indica el momento de inicio de la alimentación.....	22
<b>Figura 4.</b> Dinámica de la concentración de glucagón (pg/mL) en terneras con diferente tiempo de acceso al forraje fresco: 4, 6, 8 o 24 h/día (T4, T6, T8 y T24 respectivamente), (media $\pm$ error estándar de la media). La hora 0 indica el momento de inicio de la alimentación.....	23

## LISTA DE ABREVIATURAS

BEM: Balance energético metabólico.

CDEB: Coeficiente de digestibilidad de energía bruta.

C3: Forraje cuyos productos iniciales de la fotosíntesis son azúcares de tres carbonos.

EB: Energía bruta.

EBI: Energía bruta ingerida.

EEM: Error estándar de la media.

EM: Energía metabolizable.

EMI: Energía metabolizable ingerida.

EMm: Energía metabolizable de mantenimiento.

FDA: Fibra ácido detergente.

FDN: Fibra neutro detergente.

MO: Materia orgánica.

MS: Materia seca.

N: Nitrógeno.

PB: Proteína bruta.

T4: Pastura suministrada durante 4 horas diarias.

T6: Pastura suministrada durante 6 horas diarias.

T8: Pastura suministrada durante 8 horas diarias.

T24: Pastura suministrada durante 24 horas diarias.

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tiempo de acceso al alimento sobre el balance energético y el perfil de metabolitos (glucosa y urea) y hormonas sanguíneas (insulina y glucagón) en terneras alimentadas con forraje fresco. Se utilizaron 24 terneras de  $10,1 \pm 0.3$  meses de edad, las cuales fueron sometidas a 4 tratamientos según un diseño de bloques completos al azar. Los animales fueron alojados en jaulas metabólicas y alimentados con una pradera de alta calidad que fue cortada diariamente y ofrecida *ad libitum* como único alimento durante el tiempo establecido para cada tratamiento; T4: 4 horas diarias, T6: 6 horas diarias, T8: 8 horas diarias y T24: 24 horas diarias. Se midió el consumo de forraje y la producción de heces para la determinación del consumo de energía digestible y el cálculo del balance de energía metabolizable de los animales. Durante el último día del período de mediciones se obtuvieron muestras de sangre a las 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 horas luego del inicio de la alimentación para la determinación de metabolitos y hormonas vinculados con el metabolismo energético y proteico. El consumo de EB de los animales más restringidos (T4 y T6) fue menor al grupo T24, y la digestibilidad de la EB no fue afectada por los tratamientos. El consumo de EM y el balance de EM de los animales más restringidos (T4 y T6) fue menor con respecto a T24. No se observó efecto de restringir el tiempo de acceso a la pastura sobre la concentración de los metabolitos y hormonas, pero si se encontraron variaciones en las concentraciones de dichos metabolitos y hormonas a lo largo del día independientemente de los distintos tratamientos establecidos. Concluimos que tiempos de acceso al forraje fresco menor de 8 horas diarias afectan el balance energético de las terneras.

## SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the effect of time of access to feed on energy balance and metabolites profile (glucose and urea) and blood hormones (insulin and glucagon) in calves fed fresh forage. 24 calves were used  $10.1 \pm 0.3$  months of age, which were subjected to four treatments according to a randomized complete block design. The animals were housed in metabolic cages and fed a high quality pasture cut daily and offered ad libitum as the only food for the time set for each treatment: T4: 4 hours a day, T6: 6 hours daily, T8: 8 hours daily and T24: 24 hours a day. We measured forage intake and fecal output to determine the digestible energy and to calculate the animals' metabolizable energy balance. During the last day of the measurement period blood samples were obtained at 0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 hours after the first feeding for the determination of some metabolites and hormones linked protein and energy metabolism. Energy balance consumption in the most restricted animals – T4 y T6 - was lower than T24 group and energy balance digestibility was not affected by treatments. The metabolizable energy consumption and balance in the most restricted animals – T4 y T6 were lower than in T24. . No restriction effect occurred to the access time to the pasture over the concentration of metabolites and hormones, but variations were found in the concentrations of these metabolites and hormones throughout the day independently of the different treatments established. We conclude that access times to fresh forage less than 8 hours per day affect the energy balance of the calves.

## INTRODUCCIÓN

En Uruguay, los sistemas de producción de rumiantes son esencialmente pastoriles. Esto es debido a que gran parte del país posee condiciones muy favorables para la producción de forrajes de alta calidad y el forraje consumido mediante pastoreo constituye el recurso alimenticio con mejor relación costo/beneficio (Repetto y Cajarville, 2009). En los sistemas semi-intensivos de producción de carne y leche, generalmente se utilizan pasturas templadas de buena calidad, las cuales proporcionan al rumiante cantidades importantes de nutrientes que son ampliamente aprovechados en el rumen (Cajarville y Repetto, 2005). No obstante, aunque la calidad del forraje es muy elevada, la cantidad de que se dispone en ciertas épocas del año puede ser limitante (Pérez-Ruchel, 2010). En este sentido, surgen alternativas de manejo, como la disminución en el tiempo de acceso a la pastura, que buscan un eficiente uso de este recurso, evitando el deterioro del mismo (por ej. disminuyendo el pisoteo de los animales en las pasturas tiernas) (Chilibroste y col., 2007). Esta restricción al alimento representa uno de los factores que más afectan el aprovechamiento de las pasturas por el rumiante (Coleman y Henry, 2002).

El efecto de la restricción en el tiempo de acceso al forraje sobre el comportamiento, el consumo de materia seca (MS) y la tasa de consumo han sido ampliamente estudiados. En general, frente a este tipo de restricciones, se ha reportado un aumento en la tasa de consumo y/o la proporción del tiempo efectivo de pastoreo en detrimento de la rumia, en un intento de mantener el consumo diario de MS en vacas lecheras (Chilibroste y col., 2007). Sin embargo, es escaso el conocimiento acerca de cómo se ven afectados los metabolitos y hormonas sanguíneas. En este sentido, el análisis de las concentraciones de metabolitos sanguíneos representa un índice integrado del aporte de nutrientes en relación a la utilización de los mismos y nos permite obtener información acerca de la nutrición del animal (Razz y Clavero, 2004). Por tal motivo, se realizó este trabajo con el interés de caracterizar cómo se adaptan los animales a una restricción en el tiempo de acceso a una pastura templada de alta calidad y su impacto sobre el metabolismo energético y proteico medido a través de las variaciones de hormonas (insulina y glucagón) y metabolitos (glucosa y urea). Además se debe aclarar que el presente estudio se realizó en el marco de dos tesis de maestría y otras tesis de grado por lo cual se obtuvieron datos que serán expuestos en la discusión.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### LAS PASTURAS TEMPLADAS COMO ALIMENTO PARA RUMIANTES

El consumo de forraje por pastoreo directo es la base nutricional en los rodeos del Uruguay (INIA, 2009). Además de ser la vía más económica de alimentación (INIA, 2009), el uso de pasturas como alimento tiene otros beneficios, como pueden ser su contribución con el medio ambiente, el bienestar animal y algunos aspectos distintivos que hacen a la calidad del producto final y a sus propiedades nutraceuticas (Chaudry, 2008). Las producciones intensivas de rumiantes se apoyan en el uso de pasturas de alta calidad, siendo representadas principalmente por gramíneas C3, leguminosas y sus mezclas (Repetto y Cajarville, 2009).

Las pasturas que se utilizan en nuestro país, se caracterizan por presentar una composición química característica de un alimento de alto valor nutritivo. Este tipo de pasturas tienen un contenido de proteína bruta alto, niveles variables de azúcares solubles, y paredes celulares de alta digestibilidad (Cajarville y col., 2012). Esto puede variar ya que existen grandes diferencias en la calidad de las pasturas en las distintas etapas de su desarrollo, y esto hace que a medida que la pastura se envejece su digestibilidad disminuye (Rovira, 1996). En rumiantes, el 90% de las paredes celulares de las pasturas se digieren a nivel del rumen (Sauvant y col., 1995) por lo que la repuesta productiva del animal dependerá en gran medida de lo que ocurra a este nivel.

El consumo de estas pasturas aporta a los rumiantes materias nitrogenadas y componentes fibrosos muy degradables que generan elevadas concentraciones de amoníaco (Cajarville y Repetto, 2005) y de ácidos grasos volátiles a nivel ruminal (Pérez-Ruchel, 2006). De esta manera, juegan un importante papel en la producción microbiana y por lo tanto en el aporte de proteínas al rumiante (Cajarville y Repetto, 2005).

### UTILIDAD DE METABOLITOS Y HORMONAS COMO INDICADORES DEL ESTADO NUTRICIONAL

A medida que la producción se intensifica, la determinación de los niveles de ciertos parámetros sanguíneos se vuelve importante para valorar el estado metabólico o nutricional de una población determinada, con el fin de prevenir o diagnosticar enfermedades nutricionales y/o metabólicas. El problema se manifiesta a la hora de decidir cuándo un valor individual es anormal o normal, ya que los parámetros se ven influidos por diversas circunstancias como por ejemplo; la alimentación, la estación del año, o el estado fisiológico de los animales, entre otras causas (Radostits y col., 2002; Church, 1988).

Las hormonas, cuya concentración son reguladas mediante la circulación de metabolitos, son controladores agudos del consumo voluntario, y reflejan el estado energético inmediato del animal en relación con la demanda metabólica (Roche y col., 2008). De las hormonas y metabolitos sanguíneos vinculados con el consumo de nutrientes, se describirán a continuación las principales características de la insulina, el glucagón, la glucosa y la urea, las cuales fueron evaluados en el presente trabajo.

La glucosa es la principal fuente de energía en los seres vivos (Blood y col., 1993), e ingresa al organismo de dos maneras que pueden ser: exógena (absorción a nivel del tracto digestivo) o endógena (neoglucogénesis; síntesis que tiene lugar en el hígado principalmente), siendo esta última la vía principal en los rumiantes (Piatkowski, 1975). En éstos, el 40-60% de la glucosa se sintetiza a partir del ácido propiónico, el 20% a partir de proteínas y el resto de ácidos grasos volátiles de cadena ramificada, ácido láctico y glicerol. La gluconeogénesis aumenta luego de la ingestión de alimentos, debido a una mayor disponibilidad de los precursores de la glucosa, y desciende después de la restricción de alimentos (Bondi, 1989). En este sentido, la tasa de ingreso de glucosa al organismo, se ve influenciada por la cantidad de forraje ingerido (Piatkowski, 1975). Relling y col. (2011), han comprobado que la insulina regula el metabolismo de la glucosa y también el consumo de alimento, siendo ésta una hormona hipoglucemiante y el glucagón considerado como una hormona hiperglucemiante (García Sacristán y col., 1995).

La insulina es sintetizada y secretada por las células beta ubicadas en los islotes del páncreas, el cual es un órgano que se encuentra en la parte superior derecha de la cavidad abdominal en asociación con el duodeno, y es inervado por el nervio vago. Las células beta no sintetizan insulina como tal sino que sintetizan una molécula de mayor tamaño; la pre-pro-insulina, la cuál sufre un proceso de degradación transformándose en pro-insulina y luego en insulina (García Sacristán y col., 1995; Swenson y Reece, 1999). Esta hormona, tiene como funciones principales la de aumentar la glucogenogénesis, la glicólisis, la síntesis proteica y la lipogénesis; por lo tanto, estimula el anabolismo y es el regulador principal de la disposición de los nutrientes a nivel del organismo.

La biosíntesis y secreción de insulina en muchas especies es estimulada por un incremento de glucosa en sangre (García y col., 1995; Swenson y Reece, 1999), sin embargo, en los rumiantes la cantidad de glucosa absorbida por el intestino delgado es baja y son los ácidos grasos volátiles generados en el rumen, principalmente el propiónico, los que aumentan la concentración plasmática de insulina (Reynolds, 2002). Debido a esto, existe una elevación de la insulinemia durante e inmediatamente después de la ingestión de alimentos (por llegada masiva a la circulación portal de los ácidos grasos volátiles producidos en la digestión ruminal), pero, según algunos autores (Leuvenink y col, 1994 revisado por Cirio y Tebot, 2000), la glicemia no variaría sustancialmente.

Sin embargo, en experiencias de alimentación fraccionada se ha encontrado una tendencia al aumento de la glicemia en las horas siguientes a la ingestión, lo cual ha sido atribuido a una mayor neoglucogénesis a partir del propionato absorbido. Según Friedman y Tordoff (1986), y Reynolds (2002), la secreción de insulina podría no estar regulada solamente por metabolitos como glucosa y propionato, sino también por la estimulación hepática a través del sistema autónomo. Estas diferencias en los mecanismos de secreción de insulina podrían, en parte, influir en los mecanismos por los cuales ésta hormona regula el consumo en rumiantes (Relling y col., 2011). Grovum (1995, citado por Gregorini y col., 2009a) encontró que, los incrementos en la insulina estimulan el consumo a través de la disminución del nivel de suministro de energía (glucosa) a la circulación.

El glucagón, es una hormona producida y secretada por las células alfa del páncreas endócrino, constituido por los islotes de Langerhans. Los principales reguladores de la secreción de glucagón son la concentración plasmática de glucosa y los ácidos grasos libres que actúan como sustrato energético. De esta manera, los valores bajos de glucosa o el descenso de éstos ácidos grasos en el plasma provocan una fuerte estimulación de la secreción de glucagón (García Sacristán y col., 1995; Swenson y Reece, 1999). Los dos principales efectos de esta hormona sobre el metabolismo de la glucosa son la glucogenólisis y el incremento de la gluconeogénesis en el hígado, por lo que el glucagón es una hormona catabólica (García y col., 1995). Aunque para Weekes (1991), el papel del glucagón en mantener la glucosa basal en rumiantes es controvertido.

Otro metabolito a mencionar en el presente texto es la urea; la cual, en la mayoría de las especies es un desecho del catabolismo nitrogenado que es eliminado del organismo, sin embargo en los rumiantes la urea endógena puede ser utilizada para la síntesis de proteínas en los preestómagos. La digestión microbiana del N alimentario genera amoníaco que es parcialmente utilizado por los microorganismos para sintetizar sus proteínas y parcialmente absorbido a través de la pared ruminal para ser transformado en urea en el hígado. Así, buena parte del amoníaco que entra al ciclo hepático de la urea proviene de la digestión microbiana de los alimentos, luego de su absorción en el tracto digestivo (Cirio y Tebot, 2000). Una parte de esta urea así producida es eliminada por el riñón y otra parte retorna al retículo-rumen con la saliva y/o por difusión directa a partir de la sangre que irriga la pared de los preestómagos (Cirio y Tebot, 2000). La uremia de estos animales varía así en el mismo sentido que la concentración de amoníaco en el rumen y que el tenor nitrogenado de la ración.

El ciclo amoníaco-urea puede cambiar cuantitativamente en casos de deficiencias en la ingestión de N o de altos requerimientos proteicos durante ciertos períodos productivos. Normalmente, la proporción de urea transferida al rumen aumenta en relación a su nivel sanguíneo y a la cantidad de N ingerido. El mayor reciclaje se ve favorecido por una reducción de la eliminación urinaria de urea (Cirio y Tebot, 2000).

## RESTRICCIÓN DEL TIEMPO DE ACCESO A LA PASTURA

Los efectos de la restricción en el tiempo de acceso al forraje sobre el animal dependen de la severidad y duración de la misma. Según Allden y Whittaker (1970), cuando se limita el tiempo de acceso a la pastura, el animal desencadena un mecanismo adaptativo con el fin de lograr el mismo consumo de MS, aumentando la tasa de consumo, el peso de bocado y/o la tasa de bocado. Gekara y col. (2005), trabajando con ganado de carne a pastoreo durante 24 o 12 horas por día, encontraron que los animales con 12 horas de acceso al alimento compensaron la restricción mediante un aumento de su tasa de consumo en el mismo rango en que disminuyó el tiempo de pastoreo.

En un trabajo hecho en Uruguay con ovinos se reportó que la reducción en el tiempo de acceso a una pastura de *Lotus corniculatus* de 24 a 6 horas diarias, si bien modificó el comportamiento ingestivo de los animales, no alteró el pH o la concentración de amoníaco ruminal, o la digestibilidad de los nutrientes (Pérez-Ruchel, 2010).

El tiempo que los animales dedican a pastorear se ve influido por: los requerimientos del animal, la cantidad y calidad del forraje disponible, y el ritmo y el tamaño de bocado que puede desarrollar, entre otros. Se puede considerar normal entre 7 y 10 horas por día, aunque existe una gran variabilidad en el tiempo de pastoreo (Rovira, 1996). El pastoreo por horas en la tarde presenta ventajas sobre el realizado en la mañana debido a que el contenido de carbohidratos solubles de las pasturas es mayor durante la tarde (Pérez-Rúchel, 2006; Antúnez y Caramelli, 2009).

#### *Efectos de la restricción sobre el consumo y el balance energético*

Estudios realizados con vacas lecheras reportan que el consumo de MS (Chilibroste y col., 2007; Pérez-Ramírez y col., 2008; Kennedy y col., 2009) y la producción de leche (Chilibroste y col., 2007; Kristensen y col., 2007; Pérez-Ramírez y col., 2008) generalmente disminuyen cuando el tiempo de acceso al forraje diario es menor de 8 horas. Como era de esperar, esta disminución en el consumo de MS se vio reflejada en una reducción en la energía ingerida y por ende en un menor balance de energía al reducir de 8 a 4 horas (Pérez-Ramírez y col., 2008) o de 22 a 9 o 5 horas por día (Pérez-Ramírez y col., 2009) el acceso a la pastura en vacas lecheras. Por lo tanto, según los resultados previamente citados, la restricción en el tiempo de acceso al alimento se puede ver como una restricción en el consumo de energía.

#### *Efectos de la restricción sobre el perfil metabólico y hormonal*

Respecto al efecto de la restricción del tiempo de acceso al alimento sobre los metabolitos y hormonas, los resultados dependen de la severidad de la restricción. Gregorini y col. (2009b), encontraron que restringir el tiempo de acceso a la pastura de 22 a 8 horas por día en vacas lecheras, no alteró el consumo de MS, ni la concentración de glucosa sanguínea. Sin embargo, Chagas y col. (2008), trabajando con un grupo de vacas lecheras alimentadas con forraje sin restricción y otro con restricción (alimentados con el 73% de lo asignado al grupo sin restricción), encontraron que las concentraciones de glucosa e insulina fueron más bajas en los animales del grupo restringido respecto a los del grupo sin restricción.

Por otro lado, Cassady y col. (2009), quienes estudiaron la restricción del consumo de energía en vaquillonas (restricción al 30% de los requerimientos de energía neta de mantenimiento); encontraron una disminución en la concentración de insulina, y un aumento en la concentración plasmática de N-ureico en las vaquillonas restringidas. Rule y col. (1985), evaluando el efecto del ayuno prolongado en novillos alimentados con forraje y concentrado, encontraron una disminución en la concentración plasmática de insulina y de glucosa, y un aumento en la concentración de N ureico, sin cambios en las concentraciones de glucagón al segundo día de ayuno. Agenas y col. (2003), trabajando con vacas lecheras con un mismo período de privación del alimento encontraron resultados similares sobre las concentraciones de glucosa, insulina, y urea. Es probable que estos cambios en la concentración de urea durante la privación del alimento reflejen las alteraciones en la proporción de aminoácidos usados como fuentes de energía (Agenas y col., 2003), más que el consumo total de N y su metabolismo a nivel ruminal. De Boer y col. (1986), al realizar una restricción en el consumo de forraje a vacas lecheras

encontraron que las concentraciones de glucagón no variaron ni por el período de lactación ni por la restricción alimenticia.

Al efectuar ésta búsqueda bibliográfica se puede apreciar que hay pocos estudios dónde se realice una restricción en el tiempo de acceso a la pastura y sus efectos sobre el metabolismo energético medidos a través de metabolitos y hormonas sanguíneas, ya que la mayoría de los estudios que se han realizado son en base a una restricción en el consumo de energía o de ayunos prolongados. Respecto al balance energético la mayoría de los trabajos son realizados en vacas lecheras pero no en ganado de carne, además en los rumiantes el perfil de hormonas (insulina y glucagón) y metabolitos (glucosa y urea) sigue siendo un tema controvertido. Dado lo anteriormente expuesto se decidió llevar acabo el presente ensayo planteándonos la siguiente hipótesis.

## **HIPÓTESIS**

La restricción en el tiempo de acceso al forraje fresco en terneras, provocará diferentes ingestas de energía y por ende diferentes balances energéticos entre tratamientos, los cuales se verán reflejados en los niveles de hormonas y metabolitos.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto del tiempo de acceso a un forraje fresco de alta calidad sobre el perfil metabólico y hormonal vinculado al balance energético en terneras.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar cómo el tiempo de acceso a un forraje fresco de alta calidad afecta el consumo y el balance de energía en terneras.
- Evaluar si el tiempo de acceso a un forraje fresco de alta calidad afecta el nivel sanguíneo de algunos metabolitos (glucosa y urea) y hormonas (insulina y glucagón) vinculados con el metabolismo energético y proteico en terneras.
- Evaluar si el tiempo de acceso a un forraje fresco afecta la dinámica diurna de algunos metabolitos (glucosa y urea) y hormonas (insulina y glucagón) vinculados con el metabolismo energético y proteico en terneras.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de campo fue realizado en el Campo Experimental N°2 de Facultad de Veterinaria, en la Unidad de Digestión y Metabolismo Ruminal de los Departamentos de Bovinos y Nutrición (Libertad, San José, 34° S y 55° O) en los meses de agosto y setiembre de 2010. El análisis de las muestras de sangre se realizó en los Laboratorios de Nutrición Animal y de Técnicas Nucleares de la Facultad de Veterinaria y el de energía bruta en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Agronomía (Montevideo). El trabajo con animales fue realizado de acuerdo con los reglamentos sobre el uso de animales en experimentación, enseñanza e investigación (Universidad de la República Oriental del Uruguay).

### ANIMALES Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizaron 24 terneras de raza Hereford y cruza Hereford x Angus, de  $10,1 \pm 0,3$  meses de edad (media  $\pm$  desvío estándar), y  $153,0 \pm 18,1$  kg de peso vivo, al inicio del experimento.

Los animales fueron agrupados por peso vivo en 6 bloques y dentro de cada bloque fueron distribuidos al azar en 4 tratamientos, de acuerdo a un diseño de bloques completos al azar. El período experimental fue de 34 días en total, los primeros 14 días fueron de adaptación de los animales a la dieta y a la estabulación requerida, y los 20 días siguientes fueron para realizar las mediciones.

Los tratamientos fueron los siguientes:

- T4: pastura suministrada durante 4 horas diarias;
- T6: pastura suministrada durante 6 horas diarias;
- T8: pastura suministrada durante 8 horas diarias;
- T24: pastura suministrada durante 24 horas diarias.

### ALIMENTOS Y MANEJO

Durante el experimento los animales consumieron una pastura templada de alta calidad compuesta principalmente por Trébol blanco (*Trifolium repens*) y Raigrás anual (*Lolium multiflorum*); (52,7 % de leguminosas, 29,9 % de gramíneas 17,4 % de malezas y restos secos). La disponibilidad inicial de la pastura fue de 2.705 kg de MS/ha, y su composición química a lo largo del experimento fue: 15,3 % de MS, 19,1 % de PB, 48,2 % de FDN, 26,2 % de FDA, 11,7 % de cenizas y 4,07 Mcal de energía bruta (EB)/ kg, (en base seca).

Las terneras fueron alojadas en bretes individuales, donde tuvieron libre acceso al agua y se les suministró pastura en forma *ad libitum* (por reposición continua) durante el tiempo determinado para cada tratamiento.

La pastura fue cortada diariamente a 10 cm del suelo con una segadora de discos previo al inicio de la alimentación, y suministrada a los animales el mismo día de cortada, a partir de las 08:00 h (h0). A partir de este momento se le suministraba pastura a todos los animales en cantidades de a 4 kg (capacidad de los comederos) y a medida que la iban consumiendo se les agregaba más pastura pesada (registrando la cantidad de pastura ofrecida), durante el tiempo de acceso estipulado

para cada tratamiento. Al final de este, la pastura no consumida era retirada y pesada para registrar los rechazos.

## DETERMINACIONES

### *Consumo de energía metabolizable y balance de energía*

El consumo de EB (EBI) fue calculado durante 10 días (a partir del día 14 del período experimental), a través de la determinación de la EB del forraje ofrecido ponderada por la cantidad de forraje consumido en dicho período. Durante los últimos 5 días de medición de consumo, también se determinó diariamente la cantidad total de heces producidas, y se tomó una alícuota diaria del 10% de la producción de heces (Cajarville y col., 1999). Al finalizar el período se obtuvo un pool de materia fecal por animal y se analizó su contenido de EB. A partir de los datos obtenidos durante los 5 días de medición de producción de heces, se calcularon los coeficientes de digestibilidad para la EB (CDEB= [EBI (Mcal) – EB eliminada en heces (Mcal)] / EBI (Mcal)). Utilizando el CDEB se calculó la energía digestible ingerida [EDI= EBI (Mcal) x CDEB], que fue luego corregida por el coeficiente de metabolibilidad teórico (0,82), para la obtención de la energía metabolizable ingerida [EMI= EDI (Mcal) x 0,82]. Con estos datos se determinó el balance de energía metabolizable (BEM) por medio de la diferencia entre la EMI y los requerimientos de energía metabolizable para mantenimiento según AFRC (1993), [BEM= EMI – EMreq].

### *Metabolitos y hormonas sanguíneas*

Para la determinación de metabolitos (glucosa y urea) y hormonas (insulina y glucagón) el último día del período experimental se tomaron muestras de sangre de todos los animales a las 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 horas luego del inicio de la alimentación; para facilitar la extracción se implantó un catéter yugular en los animales.

Se obtuvo plasma para el análisis de glucosa utilizando tubos con fluoruro de potasio y EDTA (anticoagulante G), y para la determinación de glucagón se utilizó tubos de vidrio con aprotinina (inhibidor de proteasas), que fueron mantenidos en frío durante todo el procesamiento. El análisis de insulina y urea se realizó sobre suero, para lo cual se extrajo sangre en tubos sin anticoagulante. Las muestras para obtención de plasma fueron centrifugadas inmediatamente (3000 rpm) durante 15 min, y el plasma una vez separado fue congelado a -18°C para su posterior análisis. Las muestras para obtención de suero fueron procesadas (centrifugadas) a las 6 horas de extraída la sangre y el suero fue congelado a -18°C para su posterior análisis.

Glucosa y urea se determinaron por métodos colorimétricos usando kits comerciales (BioSystems S.A., Costa Brava 30, Barcelona, España). Para la glucosa, la concentración mínima detectable del ensayo fue de 0,23 mg/dL y los coeficientes de variación intraensayo para los controles bajos (84,6 mg/dL) y altos (266,8 mg/dL) fueron 1,58 % y 3,15%, respectivamente. Para la urea, la concentración mínima detectable del ensayo fue de 1,3 mg/dL y los coeficientes de variación intraensayo para los controles bajos (33,2 mg/dL) y altos (145,1 mg/dL) fueron 3,74 % y 0,61 %

respectivamente. Las muestras de glucosa y urea se analizaron por duplicado usando un espectrofotómetro Unico 1200 series (United Products & Instruments, Inc, NJ, EE.UU.). Las concentraciones de insulina se determinaron usando un ensayo inmunoradiométrico de un kit comercial (DIAsource Immuno Assays S.A, Nivelles, Bélgica). La sensibilidad del ensayo fue de 1,7  $\mu\text{UI}/\text{mL}$ , y los coeficientes de variación intraensayo para el control 1 (9,6  $\mu\text{UI}/\text{mL}$ ) y el control 2 (34,7  $\mu\text{UI}/\text{mL}$ ) fueron 9,2 % y 7,9 % respectivamente. Las concentraciones de glucagón se determinaron usando un radioinmunoensayo secuencial de un kit comercial (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Los Angeles, CA, EE.UU.). Los coeficientes de variación intraensayo para el control 1 (66,6  $\mu\text{UI}/\text{mL}$ ) y el control 2 (235,4  $\mu\text{UI}/\text{mL}$ ) fueron 9,9 % y 16,5 % respectivamente. Las muestras de insulina y glucagón se analizaron en un gamma contador Multi-Crystal LB 2111 (Berthold Technologies, Alemania).

### *Análisis químicos*

Todas las muestras de pastura ofrecida y heces se secaron en estufa a 60° C y se molieron en un molino con tamaño de malla de 1 mm, previo a la determinación de su contenido de EB por calorimetría (Harris, 1970). Para la composición química de la pastura, los contenidos de MS, materia orgánica y proteína bruta se analizaron según AOAC (1990) y los contenidos de fibra detergente neutro y fibra detergente ácido se realizaron según Van Soest y col. (1991). Todas las muestras se analizaron por duplicado.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

El efecto de la restricción en el tiempo de acceso a la pastura se analizó utilizando un modelo lineal mixto (Proc mixed del SAS®). Para los datos de consumo y balance de energía se utilizó el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + e_{ij},$$

donde  $\mu$  es la media general,  $T_i$  es el efecto fijo del tratamiento,  $B_j$  el efecto aleatorio del bloque, y  $e_{ij}$  es el error residual.

Para los datos de metabolitos y hormonas sanguíneas como son medidas repetidas en el tiempo se usó el siguiente modelo lineal mixto:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + H_j + (TxH)_{ij} + B_k + (TxB)_{ik} + e_{ijk},$$

donde  $\mu$  es la media general,  $T_i$  es el efecto fijo del tratamiento,  $H_j$  es el efecto fijo de la hora,  $(TxH)_{ij}$  el efecto fijo interacción tratamiento x hora,  $B_k$  el efecto aleatorio del bloque,  $(TxB)_{ik}$  el efecto aleatorio de la interacción tratamiento x bloque y  $e_{ijk}$  es el error residual.

Todos los resultados se presentan como medias de cuadrados mínimos  $\pm$  error estándar de la media. Las medias de los parámetros evaluados fueron comparadas mediante el test de Tukey. Se aceptó como diferencias significativas valores de  $P < 0,05$  y como tendencia valores de  $P \geq 0,05$  y  $\leq 0,10$ .

## RESULTADOS

### CONSUMO, DIGESTIBILIDAD Y BALANCE DE ENERGÍA

El consumo de EB de los animales de los grupos más restringidos (T4 y T6) fue menor a los del grupo T24 ( $P < 0,001$ ), en el mismo sentido el consumo de EM de los animales más restringidos fue menor respecto a los animales del grupo T24 ( $P < 0,001$ ). Sin embargo la digestibilidad de la EB no fue afectada por los tratamientos siendo en promedio  $81,0 \pm 1,5 \%$  ( $P = 0,445$ ). El balance de EM para los grupos más restringidos (T4 y T6) fue menor que para el grupo T24 ( $P < 0,01$ ). Los datos se encuentran expresados en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Consumo, digestibilidad y balance de energía en terneras con diferente tiempo de acceso al forraje fresco: 4, 6, 8 o 24 h/día (T4, T6, T8 y T24 respectivamente).

	Tratamientos				EEM	T
	T4	T6	T8	T24		
Consumo EB (Mcal)	8,3 <sup>a</sup>	11,0 <sup>ab</sup>	11,7 <sup>bc</sup>	14,3 <sup>c</sup>	1,1	< 0,001
Digestibilidad EB (%)	83,1	80,9	80,1	79,8	1,5	0,445
Consumo EM (Mcal)	5,7 <sup>a</sup>	7,3 <sup>ab</sup>	7,6 <sup>bc</sup>	9,3 <sup>c</sup>	0,7	< 0,001
Balance EM (Mcal)	0,5 <sup>a</sup>	2,2 <sup>ab</sup>	2,6 <sup>bc</sup>	4,2 <sup>c</sup>	0,6	0,002

EEM: error estándar de la media; T: efecto del tratamiento. Diferente letra en una misma fila  $P < 0,05$ .

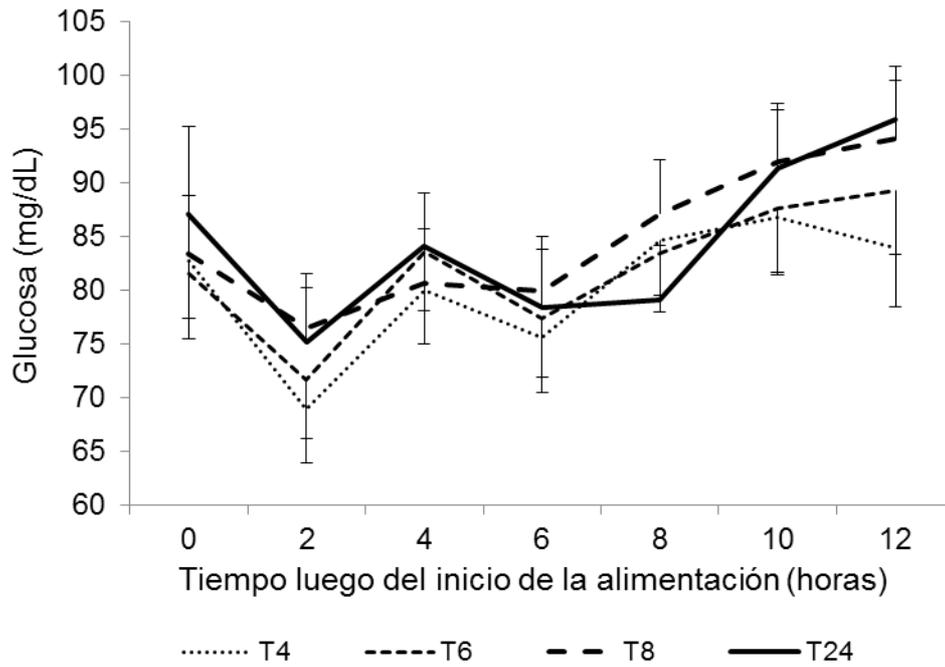
### METABOLITOS Y HORMONAS SANGUÍNEAS

#### *Glucosa*

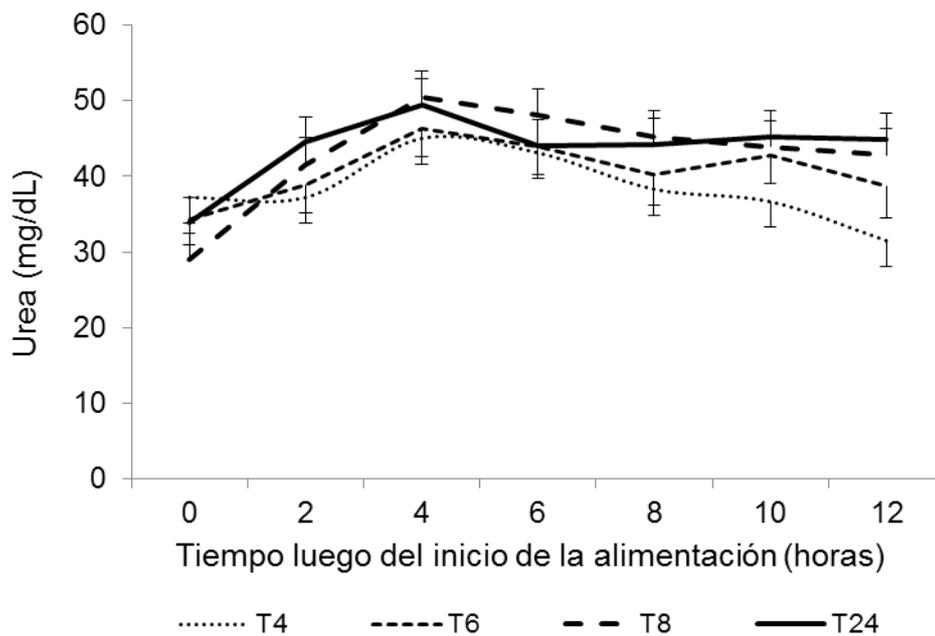
Las concentraciones de glucosa en plasma fueron afectadas por la hora ( $P < 0,001$ ), pero no presentaron efecto del tratamiento ( $P = 0,733$ ) ni de la interacción tratamiento x hora ( $P = 0,993$ ) (Figura 1). La concentración promedio de glucosa de todos los tratamientos disminuyó luego de la ingesta hasta la hora 2, y luego fue mayor en las horas 8, 10 y 12 (promedio:  $87,9 \pm 2,7$  mg/dL) respecto a la hora 2 ( $79,0 \pm 2,6$  mg/dL) pos inicio de la ingesta.

#### *Urea*

Al igual que para la glucosa las concentraciones de urea en suero fueron afectadas por la hora ( $P < 0,001$ ), pero no presentaron efecto del tratamiento ( $P = 0,311$ ) ni de la interacción tratamiento x hora ( $P = 0,501$ ). En la figura 2, se puede apreciar que la concentración promedio de todos los tratamientos aumentó luego del inicio de la ingesta hasta la hora 4, y luego alcanzó hacia la hora 12 valores similares al inicio ( $33,6, 47,8$  y  $39,5 \pm 1,8$  mg/dL para las horas 0, 4 y 12 respectivamente).



**Figura 1.** Dinámica de la concentración de glucosa (mg/dL) en terneras con diferente tiempo de acceso al forraje fresco: 4, 6, 8 o 24 h/día (T4, T6, T8 y T24 respectivamente), (media  $\pm$  error estándar de la media). La hora 0 indica el momento de inicio de la alimentación.



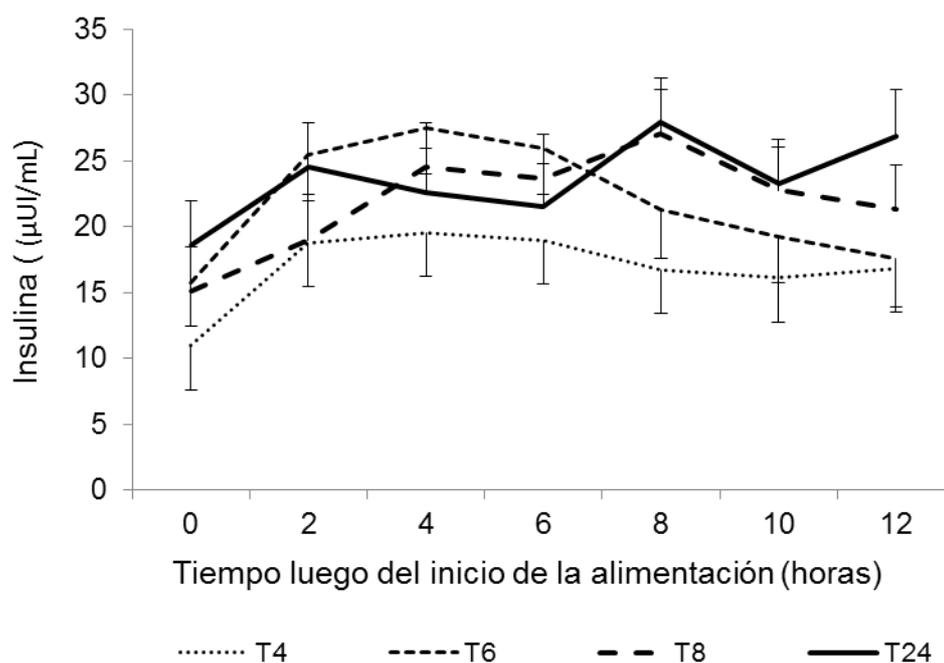
**Figura 2.** Dinámica de la concentración de urea (mg/dL) en terneras con diferente tiempo de acceso al forraje fresco: 4, 6, 8 o 24 h/día (T4, T6, T8 y T24 respectivamente), (media  $\pm$  error estándar de la media). La hora 0 indica el momento de inicio de la alimentación.

## Insulina

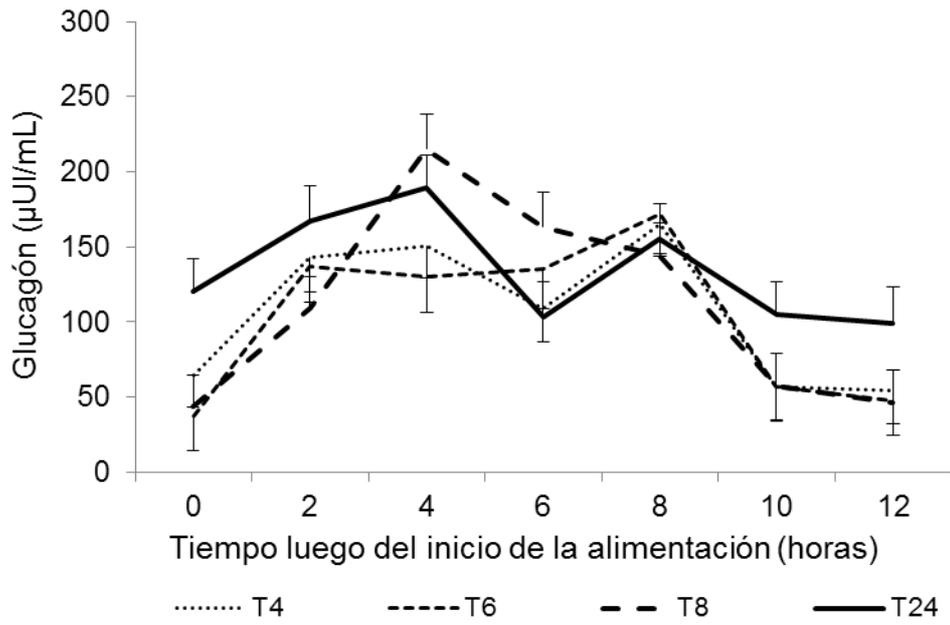
Las concentraciones de insulina en suero fueron afectadas por la hora ( $P < 0,001$ ), pero el tratamiento no presentó efecto ( $P = 0,381$ ) como tampoco la interacción tratamiento x hora ( $P = 0,136$ ). Como se puede ver en la figura 3, la concentración promedio de todos los tratamientos aumentó luego del inicio de la ingesta, sin retornar a los valores iniciales durante el período de medición ( $15,1, 21,9$  y  $20,7 \pm 1,7 \mu\text{UI/mL}$ , para las horas 0, 2 y 12 respectivamente).

## Glucagón

La hora afectó las concentraciones de glucagón en plasma ( $P < 0,001$ ), pero no hubo efecto del tratamiento ( $P = 0,199$ ), ni de la interacción tratamiento x hora ( $P = 0,174$ ). Como se puede observar en la figura 4, la concentración promedio de glucagón de todos los tratamientos aumentó luego del inicio de la ingesta (hora 0:  $66,6 \pm 11,1 \mu\text{UI/mL}$ ) y alcanzó los valores más altos entre las horas 4 y 8 (promedio:  $152,7 \pm 11,7 \mu\text{UI/mL}$ ), para luego disminuir y alcanzar valores similares al inicio de la ingesta a partir de la hora 10 (hora 10:  $69,1 \pm 11,1 \mu\text{UI/mL}$ ).



**Figura 3.** Dinámica de la concentración de insulina ( $\mu\text{UI/mL}$ ) en terneras con diferente tiempo de acceso al forraje fresco: 4, 6, 8 o 24 h/día (T4, T6, T8 y T24 respectivamente), (media  $\pm$  error estándar de la media). La hora 0 indica el momento de inicio de la alimentación.



**Figura 4.** Dinámica de la concentración de glucagón ( $\mu\text{UI}/\text{mL}$ ) en terneras con diferente tiempo de acceso al forraje fresco: 4, 6, 8 o 24 h/día (T4, T6, T8 y T24 respectivamente), (media  $\pm$  error estándar de la media). La hora 0 indica el momento de inicio de la alimentación.

## DISCUSIÓN

En el presente trabajo, los animales sometidos a tiempos de acceso al forraje menores de 8 horas diarias (T4 y T6) no lograron igualar el consumo de energía alcanzado por los animales no restringidos, lo cual coincide con lo reportado por Roja y Torterolo (2011) para el consumo de MS de estos animales. El consumo de EM varió en el mismo sentido que el consumo de EB debido a que la digestibilidad de la energía no se vio afectada por los tratamientos.

Chilibroste y col., (2007); Pérez-Ramírez y col., (2008) y Kennedy y col., (2009) realizaron estudios con vacas lecheras donde reportaron que el consumo de MS es reducido cuando el tiempo de acceso al forraje diario es menor de 8 horas. Esta disminución en el consumo de MS se vio reflejada en una reducción en la energía ingerida y por ende en un menor balance de energía al reducir de 8 a 4 horas (Pérez-Ramírez y col., 2008) o de 22 a 5 horas por día (Pérez-Ramírez y col., 2009) el acceso a la pastura en vacas lecheras. Estos resultados de menores balances de energía con menores tiempos de acceso al alimento, al comparar 8 vs 4 horas, y 22 vs 5 horas coinciden con lo obtenido en este estudio entre T8 y T4, y T24 y T4. Si bien, el balance de EM fue positivo para todos los tratamientos, en los cálculos sólo se consideró los requerimientos de mantenimiento, y no la posible ganancia de peso de animales en etapa de crecimiento (10 meses de edad), como los utilizados. Esto implica que las restricciones mayores (T4 y T6) no permitirían al menos desde el punto de vista energético, alcanzar crecimientos similares a los esperables para animales alimentados sin restricción.

Respecto a las concentraciones de glucosa debemos destacar que los valores promedio en el presente estudio (79 -88 mg/dL), son más altos que los reportados por algunos autores como Church (1993) y Bondi (1989) (40 - 70 mg/dL). Aunque en un estudio realizado en terneras de similar edad alimentadas con pasturas *ad libitum* encontraron concentraciones de glucosa de 73 mg/dL (Santana y col., 2012). Igualmente no sabemos porque nos dieron valores más altos de lo esperado, uno de los factores que pudo ver influido es el estrés de los animales, otro factor podría haber sido una elevada concentración de ácidos grasos volátiles, en especial el propiónico que es precursor de la neoglucogénesis, ya que la pastura administrada a las terneras era de excelente calidad, con una alta digestibilidad (promedio 81%) y hay estudios realizados en el Uruguay que avalan que estas pasturas pueden llegar a tener una elevada producción de AGV que son comparables con los producidos cuando se administra concentrados (Cajarville y col., 2006), debido a esto suponemos que si tenemos una alta producción de propiónico, nos puede llevar a tener concentraciones altas de glucosa.

Rowlands (1980) y McClure (1970), encontraron que las concentraciones de glucosa en el ganado pueden disminuir cuando disminuye el consumo de energía, lo que no sucedió en el presente estudio, donde la disminución en el consumo de energía metabolizable por parte de los animales de los grupos T4 y T6 no se vio acompañado de efectos en las concentraciones de glucosa. Según McClure (1970), la energía metabolizable no es el único factor responsable en el control de la concentración de glucosa, ya que la composición y calidad del alimento parecen ser más importantes.

En el presente trabajo, las concentraciones de glucosa no fueron afectadas por ninguna de las restricciones (4, 6 u 8 horas acceso a la pastura), similar a lo encontrado por Gregorini y col. (2009b), en vacas lecheras al restringir el tiempo de acceso a la pastura de 22 a 8 horas por día. Sin embargo, Chagas y col. (2008) trabajando con vacas lecheras alimentadas con forraje en forma restringida (73% de lo asignado al grupo sin restricción), encontraron que las concentraciones de glucosa fueron más bajas en el grupo restringido respecto al sin restricción.

Por otra parte, Lomax y Baird (1983), en vacas lecheras, encontraron que recién después de 24 horas de ayuno hubo cambios en la concentración de glucosa. Estos resultados, permitirían explicar por qué Rule y col. (1985), trabajando con novillos, y Agenas y col., (2003), con vacas lecheras, encontraron una disminución en la concentración plasmática de glucosa al segundo día de ayuno y sin embargo en nuestro trabajo, con 20 horas de ayuno no se observó variación.

Si bien, las concentraciones de glucosa no varían sustancialmente a lo largo del día en animales alimentados en forma continua (Cirio y Tebot, 2000), las mayores concentraciones de glucosa observadas en este experimento a partir de la hora 8 pos inicio de la ingestión, podrían atribuirse a una mayor neoglucogénesis a partir del propionato absorbido, como se ha observado en experiencias de alimentación fraccionada (Cirio y Tebot, 2000). En este sentido, Mondal y col. (2005), alimentando vaquillonas con forraje y concentrado dos veces al día, encontraron que la concentración de glucosa aumentó luego de cada comida. En cambio Wylie y col, (2008), en un trabajo con vaquillonas lecheras, encontraron que los niveles de glucosa disminuyeron después de cada comida.

Las concentraciones de insulina en suero no fueron afectadas por la restricción, a pesar de que los animales con mayor restricción (T4), consumieron 40 % menos materia orgánica (Félix y col., 2012) que los del grupo control. En cambio Chagas y col. (2008), al restringir el forraje a un 73 % respecto al control, encontraron que las concentraciones de insulina fueron menores en las vacas del grupo restringido respecto al grupo sin restricción. Rule y col (1985), en novillos con ayuno prolongado, y Cassady y col., (2009), en vaquillonas con restricción del consumo de energía, también encontraron una disminución en la concentración plasmática de insulina, pero en ambos casos las restricciones fueron mucho mayores (48 horas de ayuno, o aporte del 30 % de los requerimientos de energía neta de mantenimiento) al presente trabajo.

Como era de esperar, las concentraciones de insulina aumentaron después del inicio de la comida lo cual ha sido reportado por otros autores como Wylie y col. (2008), Leuvenink y col., (1994) revisado por Cirio y Tebot, (2000), en respuesta a la llegada masiva de ácidos grasos volátiles a la circulación portal, producidos en la digestión ruminal luego de la ingestión de alimentos.

Respecto al glucagón tampoco se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, lo cual coincide con lo reportado por De Boer y col. (1986) quien menciona que las concentraciones de glucagón no se vieron afectadas ni por el período de lactación ni por la restricción alimenticia (restricción del 50% del consumo de forraje). Tampoco Rule y col., (1985), reportaron diferencias en las concentraciones de glucagón aún con un ayuno tan prolongado como de 48 horas.

Además en un estudio realizado en Uruguay no se encontraron modificaciones significativas sostenidas asociadas a la toma de alimentos (Da Silva y col., 2009).

Las mayores concentraciones de glucagón encontradas a partir de la hora 4 pos alimentación podrían estar asociadas a un mayor nivel de ácidos grasos volátiles absorbidos. En este sentido, Harmon (1992) y Bassett (1972), concluyeron que la administración de propionato y butirato en rumiantes estimula la secreción de esta hormona. La disminución de los niveles de glucagón luego de la hora 8 pos inicio de la ingesta, similar a lo encontrado por Aguerre (2010) hacia la hora 4, no tiene una explicación clara. En un estudio con ovejas Bassett (1972), encontró que al alimentarlas después de realizar un ayuno toda la noche, las concentraciones de glucagón en plasma se incrementaban dos horas después de suministrada la alimentación durante dos horas volviendo luego a los valores basales registrados anteriormente.

En las concentraciones de urea al igual que para los demás parámetros estudiados tampoco se obtuvo diferencias significativas entre los distintos tratamientos al restringir el tiempo de acceso al forraje. Rule y col. (1985), encontraron en novillos un aumento en la concentración de N ureico a los 2 días de ayuno, debido al aumento del catabolismo de proteínas que genera una mayor disponibilidad de aminoácidos a nivel hepático, y por consiguiente excedentes de grupos aminos que son finalmente utilizados en la síntesis de urea. Cassady y col. (2009) con una restricción en el consumo de energía en vaquillonas al 30% de los requerimientos de energía neta de mantenimiento, también encontraron un aumento en la concentración plasmática de N-ureico. Por lo tanto en ambos casos el aumento de N ureico se debería a una movilización de proteínas, lo cual no parece haber ocurrido en el presente estudio, ya que en todos los tratamientos el balance de proteína metabolizable (calculado según AFRC, 1993, para animales en mantenimiento) fue positivo (66,7, 147,2, 171,5 y 251,0 g de proteína metabolizable, para T4, T6, T8 y T24, respectivamente).

Por otro lado, la mayor ingesta de N observado en el grupo sin restricción (105,6 vs 61,3 ± 5,8 g de N/día, para T24 y T4 respectivamente; Hernández y col., 2012), no se reflejó en diferencias en las concentraciones de urea a nivel sanguíneo. Sin embargo, en los animales sin restricción, se observó una tendencia a mayor síntesis de proteína microbiana (46,7 vs 20,0 g de N microbiano/día, para T24 y T4, respectivamente; P= 0,057) (Hernández y col., 2012). El aumento de las concentraciones de urea luego del inicio de la alimentación puede estar explicado por el incremento de amoníaco que se genera en el rumen luego de la degradación microbiana de las pasturas.

Los resultados de este trabajo, respecto a la variación diurna de metabolitos y hormonas es similar entre tratamientos, coinciden con Ndibualonji y col. (1997), quienes sostienen que los patrones diurnos de metabolitos y hormonas no son afectados por los aportes dietarios de proteína y energía.

Quizás los efectos de la restricción en el tiempo de acceso a la pastura no se reflejaron en los distintos parámetros sanguíneos debido a que la misma no fue demasiado severa porque la pastura utilizada era de muy buena calidad y a los animales se les suministraba en forma cortada, por lo que nos surge un interrogante:

si el alimento hubiera sido de mala calidad y con baja disponibilidad, ¿habría habido un efecto en las concentraciones de los parámetros estudiados en los distintos tratamientos? Sin embargo, los resultados obtenidos con respecto al balance de energía metabolizable, nos demuestran que el crecimiento de los animales se puede ver comprometido cuando restringimos el tiempo de acceso a la pastura a menos de 8 horas diarias.

## **CONCLUSIONES**

El tiempo de acceso a una pastura templada de alta calidad suministrada en forma cortada afectó negativamente el consumo de EB y el balance de EM, cuando las restricciones fueron mayores que 8 horas de acceso diario al alimento. Sin embargo, este efecto negativo de la restricción no se observó en el perfil de hormonas y metabolitos medidos, los cuales sólo variaron en función del tiempo relativo a la alimentación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Agenas S, Dahlborn K, Holtenius K. (2003).** Changes in metabolism and milk production during and after feed deprivation in primiparous cows selected for different milk fat content. *Livest. Prod. Sci.* 83: 53-164.
2. **Aguerre M. (2010).** Suplementación con grano de sorgo a vaquillonas consumiendo una pastura templada: efecto sobre el consumo, el aprovechamiento digestivo y el metabolismo de la glucosa. Tesis de Maestría, Montevideo, Facultad de Veterinaria. 45 p.
3. **Agricultural and Food Research Council (AFRC) (1993).** Energy and protein requirements of ruminants. Wallingford, U.K., CAB International 175 p.
4. **Allden WG, Whittaker M. (1970).** The determinants of herbage intake by grazing sheep: the interrelationship of factors influencing herbage intake and availability. *Aust. J. Agric. Res.* 21:755–766.
5. **Antúnez Fros M, Caramelli Umpierrez A. (2009).** Variación en la composición química y producción de gas in vitro de pasturas de acuerdo al horario de corte. Tesis de grado. Montevideo. Facultad de Veterinaria. 43 p.
6. **A.O.A.C. (1990).** Association of Official Analytical Chemist Official Methods of analysis. 15a. ed. Arlington, AOAC, 2 Vol.
7. **Bassett JM. (1972).** Plasma glucagon concentrations in sheep: their regulation and relation to concentrations of insulin and growth hormone. *Aust. J. Biol. Sci.* 25: 1277 – 1287.
8. **Blood DC, Studdert VP. (1993).** Diccionario de Veterinaria. Madrid. McGraw-Hill. 1296 p.
9. **Bondi AA. (1989).** Nutrición animal. Zaragoza. Acribia, 546p.
10. **Cajarville C, Mendoza A, Santana A, Repetto JL. (2012).** En tiempos de intensificación productiva...¿Cuánto avanzamos en el conocimiento de los nuevos sistemas de alimentación de la vaca lechera? *Veterinaria*, 48 (Suppl 1): 35-39.
11. **Cajarville C, Pérez A, Aguerre M, Britos A, Repetto JL. (2006).** Effect of the timing of cut on ruminal environment of lambs consuming temperate pastures. *J. Anim. Sci.* 84 (Suppl 1): 103.
12. **Cajarville C, Repetto J. (2005).** Uso de concentrados para optimizar el aprovechamiento digestivo de las pasturas. XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay, pp.121-128.

13. **Cajarville C, González J, Repetto JL, Rodríguez CA, Martínez A. (1999).** Nutritive value of green forage and crop by-products of *Cynara Cardunculus*. *Ann. Zootech.* 48: 353-365.
14. **Cassady JM, Maddock TD, DiCostanzo A, Lamb GC. (2009).** Initial body condition score affects hormone and metabolite response to nutritional restriction and repletion in yearling postpubertal beef heifers. *J. Anim. Sci.* 87: 2262-2273.
15. **Chagas LM, Gore PJS, Graham G, Macdonald KA, Blache D. (2008).** Effect of restricted feeding and monopropylene glycol postpartum on metabolic hormones and postpartum anestrus in grazing dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 91: 1822-1833.
16. **Chaudry AS. (2008).** Forage based animal production systems and sustainability, an invited keynote. *Rev. Bras. Zootec.* 37 (Supl. E.): 78-84.
17. **Chilibroste P, Soca P, Mattiauda DA, Bentancur O, Robinson PH. 2007.** Short term fasting as a tool to design effective grazing strategies for lactating dairy cattle: a review. *Aust. J. Exp. Agric.* 47:1075–1084.
18. **Church CD. (1988).** El rumiante. Fisiología digestiva y nutrición. Zaragoza, Acribia. 641 p.
19. **Cirio A, Tebot I. (2000).** Fisiología Metabólica de los Rumiantes. Departamento de Fisiología, Montevideo, Facultad de Veterinaria, 146 p.
20. **Coleman SW, Henry DA. (2002).** Nutritive value of herbage. En Freer M, Dove H. (Eds), *Sheep Nutrition*, CAB International, Wallingford, UK. 1-26 p.
21. **Da Silva S, Bosolasco D, Vergara E, Olivera J, Tebot I, Cirio A. (2009).** Variación diaria de insulinemia y glucagonemia y su relación con la ingesta en ovinos con alimentación controlada. 6ª Jornadas Técnicas de Facultad de Veterinaria. Montevideo, Uruguay, pp. 71.
22. **De Boer G, Trenkle A, Young JW. (1986).** Secretion and clearance rates of glucagon in dairy cows. *J Dairy Sci.* 69:721-733.
23. **Félix A, Hernández N, Restuccia P, Ruiz S, Aguerre M, Pérez-Ruchel A, Repetto JL, Cajarville C. (2012).** Effect of time of access to temperate forage on intake and digestibility of organic matter and fiber fractions in heifers. *J. Anim. Sci.* Vol. 90, Suppl. 3/J. Dairy Sci. Vol. 95, Suppl. 2, p: 377 (Abstract).
24. **Friedman MI, Tordoff MG. (1986).** Fatty acid oxidation and glucose utilization interact to control food intake in rats. *Am. J. Physiol.* 51:840-845.
25. **García Sacristán A, Castejón Montijano F, de la Cruz Palomino LF, Gonzáles Gallego J, Murillo López de Silanes MD, Salido Ruiz G. (1995).** Fisiología veterinaria. Madrid. McGraw-Hill. 1074 p.

26. **Gekara OJ, Prigge EC, Bryan WB, Nestor EL, Seidel G. (2005).** Influence of sward height, daily timing of concentrate supplementation, and restricted time for grazing on forage utilization by lactating beef cows. *J. Anim. Sci.* 83: 1435-1444.
27. **Gregorini P, Soder KJ, Kensinger RS. (2009a).** Effects of rumen fill on short-term ingestive behavior and circulating concentrations of ghrelin, insulin, and glucose of dairy cows foraging vegetative micro-swards. *J. Dairy Sci.* 92:2095–2105.
28. **Gregorini P, Clark CEF, Jago JG, Glassey CB, McLeod KLM, Romera J. (2009b).** Restricting time at pasture: Effects on dairy cow herbage intake, foraging behavior, hunger-related hormones, and metabolite concentration during the first grazing session. *J. Dairy Sci.* 92:4572-4579.
29. **Harmon DL. (1992).** Impact of nutrition on pancreatic exocrine and endocrine secretion in ruminants: a review. *J. Anim. Sci.* 70:1290-1301.
30. **Harris LE. (1970).** Compilación de datos analíticos y biológicos en la preparación de cuadros de composición de alimentos para uso en los trópicos de América Latina. Centro para la Agricultura Tropical, Universidad de Florida, Gainesville, Florida, EE.UU. 324 p.
31. **Hernández H, Félix A, Pérez-Ruchel A, Aguerre M, Cajarville C, Repetto JL. (2012).** Effect of time of access to temperate pasture on nitrogen utilization, digestibility of nitrogen and microbial protein synthesis in heifers. *J. Anim. Sci.* Vol. 90, Suppl. 3/*J. Dairy Sci.* Vol. 95, Suppl. 2, p: 378 (Abstract).
32. **Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. (2009).** Programa Nacional de Investigación Pasturas y Forrajes. Disponible en: <http://www.inia.org.uy/online/site/33995811.php#seccion2575>. Fecha de consulta: 24/9/12.
33. **Kennedy E, McEvoy M, Murphy JP, O'Donovan M. (2009).** Effect of restricted access time to pasture on dairy cow milk production, grazing behavior, and dry matter intake. *J. Dairy Sci.* 92:168-176.
34. **Kristensen T, Oudshoorn F, Munksgaard L, Soegaard K. (2007).** Effect of time at pasture combined with restricted indoor feeding on production and behavior in dairy cows. *Animal* 1:439–448.
35. **Lomax MA, Baird GD. (1983).** Blood flow and nutrient exchange across the liver and gut of the dairy cow. *British J. of Nutrition*, 49: 481- 496.
36. **McClure TJ. (1970).** Effect of food intake and composition on the concentration of glucose in the blood of lactating cattle. *Aust. J Agric.* 28: 333-339.

37. **Mondal M, Rajkhowa C, Prakash BS. (2005).** Diurnal changes in blood metabolites and their relation to plasma growth hormone and time of feeding in mithun heifers (*bos frontalis*). National Dairy Research, 22(5): 807-816.
38. **Ndibualonji BB, Dehareng D, Beckers F, Van Eenaeme C, Godeau JM. (1997).** Continuous profiles and within-day variations of metabolites and hormones in cows fed diets varying in alimentary supplies before short-term feed deprivation. J. Anim. Sci. 75: 3262-3277.
39. **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 consumida. Tesis de grado. Montevideo, Facultad de Veterinaria. 44 p.
40. **Peréz-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, Montevideo, Facultad de Veterinaria. 53 p
41. **Pérez-Ramírez E, Peyraud JL, Delagarde R. (2009).** Restricting daily time at pasture at low and high pasture allowance: Effects on pasture intake and behavioral adaptation of lactating dairy cows. J. Dairy Sci.92:3331-3340.
42. **Pérez-Ramírez E, Delagarde R, Delaby L. (2008).** Herbage intake and behavioural adaptation of grazing dairy cows by restricting time at pasture under two feeding regimes. J. Dairy Sci. 91:1384–1392.
43. **Piatkowski B. (1975).** El aprovechamiento de los nutrientes en el rumiante. Buenos Aires. Hemisferio Sur 440 p.
44. **Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. (2002).** Tratado de las enfermedades del ganado bovino, porcino, caprino y equino. 9ª ed. Madrid. McGraw-Hill. Vol II: 2175 p.
45. **Razz R, Clavero T. (2004).** Niveles de urea, fósforo, glucosa e insulina de vacas en ordeño suplementadas con concentrado en un sistema de *panicum maximum* y *leucaena leucocephala*. Rev. Fcv-Luz.14 (4):365–369.
46. **Relling AE, Pinos Rodríguez JM, Mattioli GA. (2011).** Un acercamiento a la relación de las hormonas gastrointestinales con el consumo de alimento en rumiantes. Agrociencia 45: 561-572.
47. **Repetto JL, Cajarville C. (2009).** ¿Es posible lograr la sincronización de nutrientes en sistemas pastoriles intensivos? XXXVII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay, p: 60-67.
48. **Reynolds C.K. (2002).** Economics of visceral energy metabolism in ruminants: Toll keeping or internal revenue service J. Anim. Sci. 80 (E. Suppl. 2):E74-E84.

49. **Roche JR, Blache D, Kay JK, Miller DR, Sheahan AJ, Miller DW. (2008).** Neuroendocrine and physiological regulation of intake with particular reference to domesticated ruminant animals. *Nutrition Research Reviews.* 21: 207-234.
50. **Roja S, Torterolo N. (2011).** Restricción en el tiempo de acceso a la pastura en terneras: efecto sobre el consumo y la digestibilidad de la materia seca, el comportamiento y el ritmo de ingestión. Tesis de grado, Montevideo, Facultad de Veterinaria. 34 p.
51. **Rovira J. (1996).** Manejo nutritivo de los rodeos de cría en pastoreo. Buenos Aires. Hemisferio Sur. 321p.
52. **Rowlands GJ. (1980).** A review of variations in the concentrations of metabolites in the blood of beef and dairy cattle associated with physiology, nutrition and disease, with particular reference to the interpretation of metabolic profiles. *World Rev. Nutr. Diet.* 35: 172–235.
53. **Rule DC, Beitz DC, de Boer G, Lyle RR, Trenkle AH Young JW. (1985).** Changes in hormone and metabolite concentrations in plasma of steers during a prolonged fast. *J. Anim. Sci.* 61: 868-875.
54. **Santana A, Morales M. Arellano L, Félix A, Cajarville C, Repetto JL. (2012).** Indicadores del metabolismo nitrogenado y energético en vaquillonas alimentadas con pastura, RTM o ambas. *Veterinaria.* vol. 48, suppl 1, p: 154.
55. **Sauvant D, Grenet E, Michaelt- Doreau B. (1995).** Degradation chimique des aliments dans le reticulo-rumen: cinétique et importance. En: Jarrige R, Ruckesbush Y, Demarquilly C, Farce MH, Journet M. *Nutrition des ruminants domestiques.* Paris. INRA.p.383-406.
56. **Swenson MJ, Reece WO. (1999).** Fisiología de los animales domésticos de Dukes. 5a ed. Mexico, Noriega, 925 p.
57. **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.
58. **Weekes TEC. (1991).** Hormonal control of glucose metabolism. En Tsuda T, Sasaki Y, Kawashima R. *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants,* Academic Press, San Diego California, p: 183 – 200.
59. **Wylie ARG, Woods S, Carson AF, McCoy M. (2008).** Periprandial changes in metabolite and metabolic hormone concentrations in high-genetic-merit dairy heifers and their relationship to energy balance in early lactation. *J. Dairy Sci.* 91:577–586.

