

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**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.**

por

DUVOS, Martín
IRIARTE, Agustín
MACHIAVELLO, Nicolás

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
2013**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

DCV Gretel Ruprechter

Segundo miembro (Tutor):

Ing. Agr. Alejandro Mendoza

Tercer miembro:

Ing. Agr. Mar

Cuarto miembro (Co-tutor):

DMTV José Luis Repetto

Quinto miembro (Co-tutor):

DCV. Alicia Félix

Fecha:

Autores:

Br. Martín Duvos Gaudín

Autores:

Br. Agustín Iriarte Chebataroff

Autores:

Br. Nicolás Machiavello Tenca

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Agr. Alejandro Mendoza, al Dr. José L. Repetto y Dra. Alicia Félix por el apoyo y respaldo brindado hacia nosotros, y por la tutoría y cotutoría de este trabajo.

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, especialmente a la Dra. Alicia Félix, por su ayuda en el procesamiento de muestras.

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

A todos los compañeros con los que realizamos el trabajo experimental y a todo el personal del Campo Experimental N° 2 (Libertad) de la Facultad de Veterinaria.

TABLA DE CONTENIDO

| | Página |
|---|-----------|
| PÁGINA DE APROBACIÓN..... | 1 |
| AGRADECIMIENTOS..... | 2 |
| LISTA DE CUADROS Y FIGURAS..... | 5 |
| 1. RESUMEN..... | 6 |
| 2. SUMMARY..... | 7 |
| 3. INTRODUCCIÓN..... | 8 |
| 4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA..... | 9 |
| 4.1. LAS PASTURAS TEMPLADAS COMO BASE DE LA ALIMENTACION PARA VACAS LECHERAS..... | 9 |
| 4.2. REGULACION DEL CONSUMO EN VACAS LECHERAS..... | 10 |
| 4.3. USO DE METABOLITOS Y HORMONAS COMO INDICADORES DEL ESTADO ENERGÉTICO Y PROTEICO DE LOS RUMIANTES..... | 11 |
| 4.4. LA UTILIZACIÓN DE RTM CON INCLUSIÓN DE PASTURAS EN LA ALIMENTACIÓN DE VACAS LECHERAS..... | 13 |
| 5. HIPÓTESIS..... | 16 |
| 6. OBJETIVOS..... | 17 |
| 6.1. OBJETIVO GENERAL..... | 17 |
| 6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 17 |
| 7. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 18 |
| 7.1. ANIMALES Y MANEJO..... | 18 |
| 7.2. DISEÑO EXPERIMENTAL..... | 18 |
| 7.3. ALIMENTOS..... | 18 |
| 7.4. MEDICIONES..... | 19 |
| 7.4.1 <i>Consumo de nutrientes</i> | 19 |

| | |
|--|-----------|
| 7.4.2 <i>Determinación de metabolitos y hormonas en sangre</i> | 20 |
| 7.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO..... | 20 |
| 8. RESULTADOS | 21 |
| 8.1. CONSUMO DE NUTRIENTES..... | 21 |
| 8.1. METABOLITOS Y HORMONAS SANGUÍNEAS..... | 21 |
| 9. DISCUSIÓN | 24 |
| 10. CONCLUSIONES | 27 |
| 11. BIBLIOGRAFÍA | 28 |

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

| | Página |
|---|--------|
| Cuadro I. Composición (base seca) de la ración totalmente mezclada..... | 19 |
| Cuadro II. Composición química de la pastura y RTM utilizadas..... | 19 |
| Cuadro III. Consumo total diario de MS, MO, PC, FDN, FDA, CNF, y energía neta para lactación en vacas lecheras alimentadas con RTM con diferentes horas de acceso a una pastura templada de alta calidad..... | 21 |
| Cuadro IV. Concentración media de metabolitos (glucosa y urea) y hormonas sanguíneas (insulina y glucagón) en vacas lecheras alimentadas con RTM con diferentes horas de acceso a una pastura templada de alta calidad..... | 22 |
| Figura 1. Dinámica de la concentración de urea (mmol/L) en vacas lecheras alimentadas con RTM con diferente tiempo de acceso a pasturas templadas: 2, 4, 6, 8 y 10 h/día (T0, T4y T8 respectivamente). La hora 0 indica el momento de inicio de la alimentación..... | 22 |
| Figura 2. Dinámica de la concentración de insulina (μ UI/ml) en vacas lecheras alimentadas con RTM con diferente tiempo de acceso a pasturas templadas: 2, 4, 6, 8 y 10 h/día (T0, T4y T8 respectivamente). La hora 0 indica el momento de inicio de la alimentación..... | 23 |

1. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tiempo de acceso a una pastura templada sobre los cambios en el consumo de nutrientes, el perfil de metabolitos (glucosa y urea) y hormonas sanguíneas (insulina y glucagón) en vacas lecheras alimentadas con ración totalmente mezclada (RTM). Se utilizaron 9 vacas Holando multíparas con 100 ± 25 días de lactancia, un peso vivo de 572 ± 76 kg y una producción en la lactancia anterior de 7079 ± 1226 litros, las cuales fueron asignadas a 3 tratamientos de acuerdo a un diseño de cuadrado latino 3×3 triplicado, con períodos de 20 días cada uno, divididos a su vez en 10 días de adaptación y 10 días de mediciones. Dicho experimento se llevó a cabo en el campo Experimental N° 2 de Libertad, de Facultad de Veterinaria, departamento de San José. Los tratamientos que se evaluaron fueron: T0: RTM a voluntad por 24 horas, T4: acceso a voluntad a la pastura por 4 horas más RTM a voluntad por 20 horas, T8: acceso a voluntad a la pastura por 8 horas más RTM a voluntad por 16 horas. La pastura utilizada fue raigrás anual (*Lolium multiflorum*) la cual se cortó diariamente para ser suministrada a los animales alojados en bretes de forma individual. Las variables que se midieron fueron el consumo de nutrientes y la concentración sanguínea de los metabolitos (glucosa y urea) y de las hormonas (insulina y glucagón) a la hora 0, 2, 4, 6, 8 y 10 luego de la primera ingesta del día a las 0900 h. Se observó un mayor consumo de materia seca, proteína cruda, FDN, FDA, carbohidratos no fibrosos y energía neta para lactancia en T4 respecto a T8, no encontrándose diferencias con T0. Con respecto a la glucosa, T0 tuvo mayores concentraciones en plasma con respecto a T8, no encontrándose diferencias con T4. Cabe destacar que las concentraciones de urea en suero fueron afectadas por la interacción tratamiento por hora ($P = 0,0144$) pero no presentaron efecto del tratamiento ni tampoco de la hora de medición. La insulina fue mayor en T0 con respecto a T8, no encontrándose diferencias en T4. Con respecto al glucagón, no hubo efectos de tratamiento, hora o interacción tratamiento por hora. Concluimos que el tiempo de acceso a una pastura templada de alta calidad afectó el consumo de nutrientes y la concentración sanguínea de glucosa e insulina en vacas lecheras alimentadas con una dieta base de RTM.

2. SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the effect of access time to a temperate pasture on changes in nutrient intake, the profile of metabolites (glucose and urea) and blood hormones (insulin and glucagon) in dairy cows fed a total mixed ration (TMR). We used nine multiparous Holstein cows with 100 ± 25 days of lactation live weight of 572 ± 76 kg and production in the previous lactation of 7079 ± 1226 liters, which were assigned to 3 treatments according to 3, 3 x 3 Latin square design, with periods of 20 days each, in turn divided into 10 days for adaptation and 10 days for measurements. The experiment was conducted at the Experimental Field No. 2 Libertad, Faculty of Veterinary Medicine, Department of San José. The treatments evaluated were: T0: TMR ad libitum for 24 hours, T4: ad libitum access to pasture for 4 hours and ad libitum access to TMR for 20 hours, T8: ad libitum access to pasture for 8 hours and ad libitum access to TMR for 16 hours. The pasture used was annual ryegrass (*Lolium multiflorum*) which was cut daily to be fed to animals housed individually in stalls. The variables measured were nutrient intake, and blood concentration of metabolites (glucose and urea) and hormones (insulin and glucagon) at hour 0, 2, 4, 6, 8 and 10 after the first daily meal. A higher dry matter intake in T4 compared to T8, no differences at T0. Q4 also maintained high levels of crude protein, NDF and ADF compared with T8, whereas no differences were found at T0. Although the non-fibrous carbohydrate intake was higher in the T4, no differences with T0, whereas if there were differences to T8. With respect to glucose, T0 higher plasma concentrations obtained with respect to T8, no differences in T4. Notably urea concentrations in serum were affected by the interaction between treatment and time ($P = 0.0144$) but had no treatment effect and also the effect hour. Insulin was higher at T0 with respect to T8, which is explained by the glucose, no differences in T4. With respect to glucagon, we can say we had higher T4 concentrations, but there was no effect of treatment, time and treatment by time interaction in any of the measured variables. We conclude that the time of access to high quality pasture affected warm nutrient intake and the blood concentrations of glucose and insulin in dairy cows fed with a TMR.

3. INTRODUCCIÓN

La producción lechera en Uruguay se ha basado históricamente en sistemas fundamentalmente pastoriles. Las pasturas templadas son utilizadas en los sistemas semi-intensivos, aunque existen épocas del año en las cuales la cantidad de forraje es limitante, por lo tanto se debe asociar con suplementos como concentrados y/o forrajes conservados (Mendoza y col., 2011). El Uruguay presenta ventajas comparativas para la producción de pasturas de buena calidad nutricional a bajo costo debido a su ubicación geográfica y al clima templado. La leche producida por vacas en pastoreo presenta características nutricionales beneficiosa para la salud humana como ser mayor cantidad de ácido linoleico conjugado, sumado al bien estar animal que implica este tipo de producción, representando una ventaja para la comercialización de leche para el país, llegando a los mercados más exigentes. Sin embargo, hay que tener presente que los sistemas lecheros más intensivos ya están explorando "techos" de producción a partir de la tecnología disponible, basado en el uso de pasturas, concentrados y reservas forrajeras que se ofrecen por separado, por lo que debería de recurrirse a otras alternativas de alimentación para poder aumentar la producción (Durán, 2004).

En este sentido el uso de raciones totalmente mezcladas (RTM) es una herramienta valedera para mejorar los indicadores económicos y productivos de los tambos en el país. Las RTM son aquellas en las que se suministra de forma conjunta y homogénea los concentrados, forrajes y aditivos, de manera que los animales consumen una dieta que cubre todos sus requerimientos. Entre las ventajas de la RTM están que cada bocado de alimento contiene la cantidad correcta de ingredientes para una dieta balanceada, produciendo un ambiente ruminal más estable e ideal para los microorganismos del rumen mejorando la utilización del alimento, disminuyendo la incidencia de problemas digestivos y metabólico y aumentado la producción individual.

El estudio de los aspectos nutricionales y metabólicos de la utilización de RTM en combinación con pasturas templadas es determinante para el desarrollo de estrategias que permitan optimizar la productividad y rentabilidad en estos sistemas mixtos de alimentación, logrando capitalizar las ventajas de los sistemas RTM y reteniendo al mismo tiempo los beneficios de la inclusión de pasturas en la alimentación de rumiantes (Santana, 2012). En el país existe poca información sobre los resultados de la combinación de pasturas con RTM en vacas lecheras, la cual es muy importante para poder afrontar los nuevos desafíos de la lechería en el Uruguay en lo que refiere a la producción de forma de lograr que el sector sea más rentable y pueda competir con otras actividades como la agricultura y la forestación.

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1. LAS PASTURAS TEMPLADAS COMO BASE DE LA ALIMENTACIÓN PARA VACAS LECHERAS.

La producción de leche en Uruguay se ha basado tradicionalmente en el pastoreo directo de gramíneas y leguminosas, asociadas al uso de suplementos como concentrados y/o forrajes conservados para los momentos de déficit forrajeros (Mendoza y col., 2011). Las pasturas templadas, mezcla de gramíneas y leguminosas, cuando son consumidas por los rumiantes en estado vegetativo, presentan una alta digestibilidad, superior a un 70%, lo que está explicado por una alta degradabilidad de las fracciones fibrosas (Cajarville y col., 2012). También puede promover una alta eficiencia de producción de proteína microbiana en el rumen, que es difícil de aumentar con el agregado de concentrados energéticos (Repetto y Cajarville, 2009). También presentan proteínas solubles y de rápida degradación (Repetto y col., 2005).

A su vez, hoy en día existe un interés a nivel mundial respecto a la inclusión de pasturas frescas en la dieta de vacas lecheras, ya que estas podrían traer beneficios tanto al productor como al consumidor final. Si los comparamos con los sistemas de alimentación de vacas con RTM estos ofrecen una imagen más “amigable” con el ambiente, ya que minimizan la polución y tienen menos efectos negativos sobre la calidad del suelo (Hanson y col., 1998). Por otra parte, se ha propuesto que los sistemas pastoriles pueden tener beneficios sobre la salud animal y por lo tanto promoverían un mayor bienestar de los mismos (Rushen y col., 2008).

Una de las mayores limitantes de los sistemas pastoriles es la dificultad de asegurar una oferta constante de alimentos en calidad y cantidad. Los animales que son alimentados a pastoreo, van a tener un menor consumo de materia seca total y por lo tanto de nutrientes respecto a los que son alimentados con RTM, por lo que el potencial lechero no se explota completamente (Kolver, 2003). Ello se debe a restricciones de tipo físicas, por limitación de tiempo, por la alta cantidad ingerida en la pastura, entre otros factores. Otra de las limitantes es que presentan un costo de energía con respecto a la búsqueda y cosecha del alimento (Kolver, 2003). Por lo tanto los sistemas estabulados permitirían proporcionarles mejores dietas con la cual cubrirían más fácilmente las demandas nutricionales y poder expresar mejor su potencial lechero.

En nuestro país, desde hace ya muchos años se viene utilizando una genética proveniente de países como EEUU y Canadá, teniendo como objetivo tratar de lograr mayores producciones de leche. Dietas basadas exclusivamente en este tipo de pasturas no permitiría explotar el potencial genético de producción de leche de los animales que se utilizan. Esta información nos indica que se debería recurrir a otras alternativas para proseguir la intensificación de la producción de leche (Mendoza y col., 2011).

4.2. REGULACION DEL CONSUMO EN VACAS LECHERAS

En los sistemas pastoriles de producción de leche los resultados físicos y económicos según Hodgson (1990) van a depender de cantidad, calidad de forraje, suplemento disponible, así como también de la carga y potencial genético animal.

Por lo tanto, es importante destacar que el consumo es una de las principales limitantes para determinar la performance animal (Chilibroste, 1998). Las teorías que se tienen en cuenta hoy en día como principales reguladoras del consumo de ruminantes a pastoreo son: la regulación física y el comportamiento ingestivo. Según la regulación física el animal puede comer hasta cierto nivel de llenado del rumen, en el cual se produce una distensión de las paredes ruminales suficiente para activar los receptores mecánicos, los que enviarían la información hacia el sistema nervioso central logrando el cese del consumo. El consumo de materia seca provoca presión sobre las paredes del rumen y es aliviada por los procesos de degradación del contenido ruminal a cargo de la microflora fermentativa y pasaje de las fracciones insolubles. Luego que disminuye la presión sobre la pared ruminal por la degradación y pasaje, el estímulo sobre los receptores desaparece y el consumo puede reiniciarse (Chilibroste, 1998).

Conrad y col. (1964) realizaron un trabajo donde analizaron la relación que existe entre consumo voluntario y digestibilidad de la materia seca. El modelo que plantearon es que el animal procura un consumo constante de energía, el cual es determinado por sus requerimientos. Una vez superada las limitantes físicas del consumo que estaría en un 66% de digestibilidad (punto de inflexión), el consumo de energía se mantiene constante y baja el consumo de materia seca al aumentar la digestibilidad o concentración energética de la dieta. Sin embargo, para Chilibroste (1998) el hecho de que el punto de inflexión sea 66% está directamente relacionado con las condiciones en que el experimento fue realizado y para el tipo de animal utilizado, y surgió que este modelo puede no aplicarse a ruminantes alimentados con pasturas de alta calidad, donde otros serían los factores que limitarían el consumo.

Otra variable limitante del consumo que se nombró anteriormente es el comportamiento ingestivo. El consumo de animales en pastoreo está determinado por la interacción entre la tasa de consumo (g/minuto) y el tiempo de pastoreo efectivo (minutos). Cabe destacar que la tasa de consumo a su vez puede ser descompuesta como el producto entre tasa de bocados (bocados/minuto) y peso de cada bocado individual. El peso de bocado está compuesto por el volumen de forraje cosechado y la densidad del horizonte de pastoreo, que explica gran parte de la variación en el consumo. A su vez el volumen que un animal puede cosechar en un bocado individual va a depender de la profundidad de pastoreo y del área que el animal sea capaz de cubrir con la lengua (Chilibroste, 1998).

Según Chilibroste (1998), en ruminantes alimentados con pasturas de alta calidad, otros serían los factores que indicarían el fin de la sesión de alimentación, como la presión osmótica en el líquido ruminal y/o la concentración de ácidos grasos volátiles. De acuerdo con Forbes (1995, citado por Chilibroste, 1998), es posible que múltiples factores no excluyentes puedan ser responsables de un nivel sub-óptimo

de consumo de materia seca en rumiantes, más que factores individuales mutuamente excluyentes.

Por otro lado Faverdin (1999), estudio como influyen los distintos nutrientes en el control del consumo de alimento, encontró que los ácidos grasos volátiles (AGV) cuando son infundidos en el rumen, bajan considerablemente el consumo de alimento en el corto plazo, estos representan el 50-75% del suministro energético de un rumiante, también encontró que los nutrientes nitrogenados tienen poco efecto en el corto plazo en el consumo de alimento, y que las señales metabólicas de la digestión intestinal, especialmente de la glucosa y el almidón, tienen muy poca influencia a largo plazo en el control del consumo, en comparación con las señales de la digestión ruminal, esto está explicado por la falta de receptores de glucosa en el duodeno de rumiantes, también por el hecho de que los rumiantes son más sensibles a las señales de saciedad desde el rumen que a los de digestión intestinal, en particular con respecto a la glucosa.

4.3. USO DE METABOLITOS Y HORMONAS COMO INDICADORES DEL ESTADO ENERGÉTICO Y PROTEICO DE LOS RUMIANTES.

La explotación lechera en Uruguay ha experimentado un auge en los últimos años, desarrollándose empresas con altos niveles de intensificación, teniendo como objetivo principal tratar de lograr un máximo en producción de leche a un costo mínimo. Por lo tanto cuanto más grande sea el potencial productivo, es mayor el riesgo de provocar trastornos metabólicos en los animales, debido al desbalance entre el ingreso y egreso de nutrientes al organismo. Por eso es importante identificar metabolitos y/u hormonas que sean capaces de indicar el balance de nutrientes de un animal en un momento dado.

La glucosa es la fuente principal de energía para los seres vivos inclusive los rumiantes, siendo el principal sustrato energético para el cerebro, glándula mamaria, el feto y el músculo. La glucosa se produce casi exclusivamente a través de la gluconeogénesis, la cual ocurre principalmente en el hígado. En los rumiantes bien alimentados, el principal precursor para la gluconeogénesis es el propionato, uno de los ácidos grasos volátiles más importantes que se producen a nivel de rumen (Bell y Bauman 1997). En caso que la ingesta de nutrientes no sea suficiente, el animal puede aumentar la tasa de gluconeogénesis a partir de otros precursores como aminoácidos o glicerol (Brockman, 1986).

La glucosa es uno de los metabolitos que representa la ruta metabólica de la energía. Sin embargo, es menos sensible a las variaciones en el suministro de energía en la dieta, ya que su concentración en la sangre está regulada por un mecanismo hormonal eficaz destinado a mantener constante las concentraciones de glucosa. Por lo tanto, el déficit energético ha de ser muy intenso con el fin de disminuir las concentraciones de glucosa en sangre (González, 2000).

Según Whitaker (2004) si la sangre se recogió en tubos dentro de las fechas previstas, si la mezcla con el anticoagulante es completa pero suave y el análisis se lleva a cabo dentro de los cuatro o cinco días de recolección, la glucosa plasmática es una medida sensible del balance de energía, incluso dentro del rango óptimo,

que está por encima de 3,0 mmol/L. Según el Laboratorio de Patología Clínica Veterinaria de la Universidad Austral de Chile las concentraciones sanguíneas de glucosa estarían en un rango entre 2,5 a 4,1 mmol/litros.

La insulina es una hormona polipeptídica producida por las células β de los islotes de Langerhans, en el páncreas. Su papel principal es regular los niveles sanguíneos de glucosa, aumentando su captación por los tejidos y su almacenamiento como glucógeno o componente de lípidos. También promueve la captación de aminoácidos por los músculos esqueléticos, estimulando la síntesis proteica y disminuyendo la proteólisis. Por otro lado el glucagón es una hormona peptídica producida por las células α de los islotes pancreáticos cuyas funciones son opuestas a las de la insulina. En el hígado, estimula la glucogenólisis y la gluconeogénesis a partir de aminoácidos y glicerol, con el fin de mantener un nivel de glucosa en sangre suficiente (Squires, 2010).

Las fuentes alimenticias del nitrógeno incluyen aminoácidos, ácidos nucleicos, proteínas, péptidos, aminas, nitratos, nitritos, urea y amoníaco. Con excepción de algunas proteínas, estas fuentes de nitrógeno son fácilmente solubles y susceptibles a la degradación en el rumen (Huntington y Archibeque, 1999). Por otro lado, se dio a conocer que la extensión y velocidad de degradación de una fuente proteica depende de la actividad proteolítica de la micro flora ruminal, del tipo de proteína y de la tasa de pasaje del alimento (Sniffen y col., 1992). La urea se produce en el hígado, pero una vez liberada a la sangre se excreta en la orina o vuelve a entrar en el tracto digestivo por difusión en la saliva o directamente a través de la pared ruminal. El reciclaje del nitrógeno proporciona una fuente continua de amoníaco para apoyar la fermentación microbiana en el rumen (Huntington y Archibeque, 1999).

La urea es un producto del metabolismo del nitrógeno y su determinación en muestras del suero sanguíneo, junto con la albúmina, revelan información sobre el metabolismo proteico del animal. La concentración en sangre de urea es un indicador directo con el contenido de proteína de la dieta. Los valores bajos de urea en sangre se encuentran en rodeos con dietas deficientes en proteínas y valores mayores en aquellos que utilizan dietas con ingesta excesiva de proteína o con un déficit de energía (González, 2000).

Los valores bajos de urea en sangre son los más importantes desde el punto de vista nutricional, pero es necesario que se pueda distinguir entre los valores que son bajos debido a la baja ingesta total o porque la dieta no contiene una adecuada cantidad de proteína degradable en rumen, teniendo en cuenta que el nivel óptimo para la urea en sangre está por encima de 3,6 mmol/litro (Whitaker, 2004). Según el Laboratorio de Patología Clínica Veterinaria de la Universidad Austral de Chile las concentraciones sanguíneas de urea para las vacas lecheras oscila entre 2,6 y 7,0 mmol/litro.

El análisis de urea en sangre o leche junto a otras variables como por ejemplo la condición corporal, concentraciones de betahidroxibutirato, representan una importante alternativa para el control preventivo de los desequilibrios de energía

metabólica nutricional de la dieta, especialmente en la lactancia temprana en vacas de alta producción (González, 2000).

Herbein y col. (1985) midieron concentraciones de glucosa, insulina, glucagón, hormona del crecimiento y relación insulina/glucagón en vacas lecheras en distinta etapa de la lactación. Con respecto a la glucosa notaron un aumento continuo durante los primeros 7 meses de lactancia y luego tendió a estabilizarse durante los últimos 2 meses, posiblemente relacionado a la demanda de glucosa debido a la gestación. Las concentraciones de insulina y la relación insulina y glucagón aumentaron a partir de los 50 días de lactación. Las concentraciones de glucagón fueron similares a lo largo de las lactancias.

Otro estudio fue realizado por Ingvarlsen y Friggens (2005), en el cual se utilizaron tres razas, Danish Red, Holstein Danés y Jersey (317 vacas y 634 lactancias en total). En este estudio se analizó en qué grado la variación en la producción de leche corregida por la energía fue explicada por la variación de las concentraciones de hormonas como insulina, hormona del crecimiento, triyodotironina y metabolitos como ácidos grasos no esterificados, glucosa, β hidroxibutirato y nitrógeno ureico, y el consumo de energía digestible. Los autores observaron que las hormonas, metabolitos y el consumo de energía digestible representaron el 24, 25 y 26% de la variabilidad en la producción de leche, respectivamente. Cuando incluyeron hormonas y metabolitos en un mismo modelo, el mismo explicó 36% de la variabilidad entre vacas en la producción de leche y esta cifra se incrementó hasta el 53% incluyendo el consumo de energía digestible.

4.4. LA UTILIZACIÓN DE RTM CON INCLUSIÓN DE PASTURAS EN LA ALIMENTACIÓN DE VACAS LECHERAS.

Las raciones totalmente mezcladas (RTM) son un sistema de alimentación donde los forrajes y alimentos concentrados son completamente mezclados, y de esta forma son ofrecidos a los animales. Esto permite que el animal consuma la mezcla correcta de nutrientes en cada bocado, manteniendo así un ambiente ruminal más estable. Este tipo de sistemas tienen algunas ventajas como: a) maximizar el consumo individual, b) ofrecer una dieta con un aporte balanceado de nutrientes y una relación óptima de forraje/concentrado, c) minimizar la selectividad por componentes individuales, d) aumentar la producción de leche, e) mayor control de problemas digestivos y metabólicos, f) permite mayor exactitud en la formulación y administración si se utiliza adecuadamente, g) la mezcla de los alimentos puede disminuir el sabor de los alimentos menos agradables (Lammers y col., 2002).

Por otra parte el uso de RTM tiene ciertas desventajas que se deben tener presentes como: a) el uso de algún tipo de equipo para la mezcla y el reparto de la RTM, b) instalaciones para la alimentación de los animales (corral o patio de alimentación), c) para el tratamiento de los efluentes generados y d) para el almacenamiento de los alimentos a usar, lo cual supone una inversión en capital. Asimismo, al usar dietas RTM es recomendable agrupar las vacas en lotes para un uso más eficiente de la misma lo que puede no ser posible en tambos que tienen un número reducido de animales y/o de escasa mano de obra (Lammers y col., 2002).

Si bien existe poca literatura sobre la combinación de dietas RTM con pasturas, hay ciertos estudios acerca de vacas alimentadas con diferentes sistemas de tratamientos combinando pasturas templadas con RTM (Bargo y col., 2002). El estudio se basó en vacas alimentadas con: 1) pradera más concentrado (PC), 2) pasturas más RTM (RTMP) y 3) solo RTM. Los animales alimentados con RTM y RTMP obtuvieron mayores consumos de materia seca, mayor producción de leche, mayor producción de grasa en leche y porcentajes de proteína verdadera que las vacas en PC. Sin embargo, las vacas alimentadas con PC tuvieron mayores niveles de amoníaco ruminal, pero no hubieron diferencias en el pH o la concentración y perfil de AGV. Las vacas alimentadas con RTMP tuvieron menor concentración de urea en plasma y leche con respecto a las alimentadas con PC, lo que sugiere una mayor utilización del nitrógeno.

Santana (2012) realizó un experimento utilizando 9 vaquillonas cruzas, las cuales fueron sometidas a 3 tratamientos: 24 horas de RTM, 24 horas pastura templada (pastura) y 18 horas RTM + 6 horas de pastura (RTM+PA); todos los animales recibieron los 3 tratamientos según un diseño de cuadrado latino, con una duración de 18 días cada período. El ensayo arrojó los siguientes resultados: el consumo de MS del tratamiento pastura fue menor respecto a los otros dos tratamientos, que no difirieron entre sí. Se observaron menores niveles de insulina para el tratamiento con pastura, mientras que el tratamiento con RTM presentaron mayores niveles de insulina que los del tratamiento RTM+PA. Con respecto a las concentraciones de glucosa, se observaron valores menores para el tratamiento con pasturas respecto a RTM y RTM+PA. Las concentraciones plasmáticas de urea fueron menores en los tratamientos con RTM y RTM+PA respecto al tratamiento con pasturas. El mayor consumo de CNF del tratamiento RTM contribuyó a establecer mayores glicemias y un metabolismo energético más activo que los demás tratamientos. La retención de N fue mayor para el tratamiento pastura respecto a RTM, quedando RTM+PA en una situación intermedia sin diferir de ambos.

Kolver y Muller (1998) compararon las ingestas de nutrientes en vacas Holando de alta producción, consumiendo pastura o RTM e identificaron los nutrientes que limitaban la producción de leche en vacas que consumían pasturas de alta calidad. Los resultados que obtuvieron fueron los siguientes: se redujo significativamente el consumo de materia seca de las vacas que consumieron pasturas en relación a las confinadas (19 vs 23,4 kg / d de MS), así como la producción de leche (29,6 vs 44,1 kg/d), el contenido de proteína en leche (2,61% frente a 2,80%), el peso vivo (562 vs 597kg) y la condición corporal (2,0 vs 2,5). Los autores concluyeron que la principal limitante para la producción de leche a partir de pasturas de alta calidad es la energía metabolizable.

Olmos y col. (2009) plantearon la hipótesis de que las vacas en un sistema de producción posparto basado en pasturas y suplementación de concentrado mejora el bienestar perinatal en comparación a las vacas en un sistema de confinamiento, alimentadas con RTM. Se tomaron muestras de sangre en la cuales analizaron las proteínas de fase aguda, cortisol, recuento diferencial de leucocitos y otros metabolitos bioquímicos como indicadores no específicos de estrés y de problemas subclínicos y nutricionales. No se encontraron diferencias entre los tratamientos de las proteínas de fase aguda, cortisol y recuento diferencial de leucocitos. Las

diferencias metabólicas en sangre indicaron que las vacas que se encontraban en el sistema de producción en base a pastura estuvieron bajo un mayor estrés nutricional que las vacas en confinamiento. Las vacas alimentadas en base a pastura obtuvieron menores niveles de urea, beta hidroxiburitato y ácidos grasos no esterificados y mayores concentraciones de triglicéridos y una tendencia a tener mayores concentraciones de colesterol y calcio que las vacas en confinamiento. Los resultados reflejan principalmente diferencias nutricionales en el tratamiento con pastura, muestra mayor potencial de estrés nutricional/metabólico en lactancia temprana que cuenta con repercusiones para el bienestar. Sin embargo, esto no se reflejó en la salud de los animales y, de acuerdo con la hipótesis, la salud y el bienestar reproductivo de las vacas alimentadas con pasturas tienden a ser mejores que la de las vacas en confinamiento.

Oltner y Wiktorsson (1983) estudiaron el efecto que tuvo la dieta en la concentración de urea en leche y plasma, así como la concentración de glucosa en plasma. Para ello utilizaron 8 vacas multíparas de la raza Swedish Red y White Breed, que fueron alimentadas con raciones con cantidades variables de proteína bruta y energía metabolizable. Los resultados obtenidos fueron, que cuando se alimentaron las vacas de acuerdo con la norma sueca (ESP), todas las vacas tenían un contenido de urea en leche alrededor de 5 mmol/L. La concentración se alteraba solo cuando la cantidad de proteína aumentaba o disminuía para una relación de energía-proteína constante. Se encontró que el principal factor en influir en el contenido de urea en leche no era la cantidad de proteína ingerida en la ración, sino la relación entre la proteína y la energía en la dieta. También encontraron que la dieta no tenía efecto sobre la concentración de glucosa en plasma.

Delany y col. (2010) realizaron un experimento para medir el efecto que tenía la dieta en la concentración de hormonas metabólicas y metabolitos en sangre. Para el estudio utilizaron vacas Holando a las cuales las dividió en dos grupo: un grupo fue alimentado con RTM y otro grupo consumió pastura fresca y se las complementó con granos. En 7 ocasiones durante la lactancia midieron las concentraciones de hormonas metabólicas en plasma sanguíneo de cada vaca. Los resultados que obtuvieron fue que; las vacas que consumieron RTM tenían concentraciones en sangre más altas de insulina, glucosa, glucagón, factor de crecimiento similar a la insulina, de leptina y de relación insulina:glucagón, pero concentraciones más bajas de la hormona de crecimiento que aquellas vacas que consumieron pasturas más granos. También las vacas alimentadas con RTM ganaron más peso y condición corporal en relación a las del otro tratamiento.

5. HIPÓTESIS

Los cambios en el tiempo de acceso a una pastura templada de alta calidad provocarán cambios en el consumo de nutrientes, viéndose reflejado en cambios en la variación post-ingesta de metabolitos y hormonas en sangre vinculadas con el metabolismo energético y proteico de vacas lecheras alimentadas con una ración totalmente mezclada.

6. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del tiempo de acceso a una pastura templada de alta calidad sobre el consumo de nutrientes y el perfil de metabolitos y hormonas sanguíneas vinculados con el metabolismo energético y proteico en vacas lecheras de alta producción alimentadas con una ración totalmente mezclada.

6.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

En vacas lecheras alimentadas con RTM evaluar el efecto del tiempo de acceso a una pastura templada de alta calidad sobre:

- el consumo de materia seca y orgánica, proteína cruda, fibra detergente neutro y ácido, carbohidratos no fibrosos y energía neta para lactancia
- la concentración sanguínea de glucosa y urea
- la concentración sanguínea de insulina y glucagón

7. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de campo se realizó 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, ubicada en Libertad, departamento de San José y el análisis de las muestras de sangre en los laboratorios de Nutrición Animal y de Técnicas Nucleares de la Facultad de Veterinaria en Montevideo.

7.1. ANIMALES Y MANEJO

Se utilizaron 9 vacas multíparas de la raza Holando, con un peso vivo de 572 ± 76 kg, que al inicio del experimento tenían 100 ± 25 días de lactancia y una producción en la lactancia anterior de 7079 ± 1226 litros. Los animales se alojaron individualmente en bretes, teniendo libre acceso al agua, y se le suministró alimento ad libitum durante el tiempo determinado que se describirá posteriormente para cada tratamiento. Los animales se ordeñaron dos veces por día (07:30 y 19:00 horas).

7.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño del experimento fue un cuadrado latino 3 x 3 triplicado. Cada período tuvo una duración de 20 días, los primeros 10 días de cada período fueron de adaptación a la dieta de los animales y los 10 restantes correspondieron a período de mediciones. El tiempo que duró el trabajo experimental fue de 60 días.

Los tratamientos evaluados fueron:

- T0: RTM ad libitum por 24 horas.
- T4: acceso a pastura por 4 horas ad libitum más RTM ad libitum por 20 horas.
- T8: acceso a pastura por 8 horas ad libitum más RTM ad libitum por 16 horas.

7.3. ALIMENTOS

Durante el experimento los animales consumieron una RTM compuesta por: ensilaje de maíz, grano de maíz, harina de soja y núcleos de vitaminas y minerales para satisfacer los requerimientos de vacas de 600 Kg produciendo 35 L/día (según N.R.C., 2001). La pastura que se utilizó fue raigrás anual (*Lolium multiflorum*).

La pastura fue cortada diariamente a 10 cm del suelo con una segadora de discos y suministrada el mismo día a los animales de los tratamientos T4 y T8 a partir de las 09:00 h (h0), mientras que los animales del tratamiento T0 solo consumieron RTM. Los animales de los tratamientos T4 y T8 pasaron a consumir RTM una vez que terminó el tiempo en que tenían acceso al pasto.

Cuadro I. Composición (base seca) de la ración totalmente mezclada.

| | 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 |
| Oxido de magnesio | 0,2 |
| Premezcla de vitaminas y minerales traza ¹ | 0,04 |
| Secuestrante de micotoxinas ² | 0,04 |
| Monensina ³ | 0,01 |

¹Rovimix® Lecheras, DSM Nutritional Products Ltd. Basilea, Suiza

²Mycifix® Plus, Biomin Innovative Animal Nutrition GmbH, Herzogemburg, Austria

³Rumensin® 100 Premix, Elanco Animal Health, Greenfield, EEUU

Cuadro II. Composición química de la pastura y RTM utilizadas.

| | Alimentos | |
|---------|-----------|---------|
| | RTM | Pastura |
| MS (%) | 35,8 | 15,3 |
| PB (%) | 16,1 | 17,1 |
| FDN (%) | 40,3 | 47,1 |
| FDA (%) | 22,9 | 26,5 |

MS %: materia seca; PB %: Proteína cruda; FDN %; Fibra detergente neutro; FDA %; Fibra detergente ácido;

RTM: Ración totalmente mezclada.

7.4. MEDICIONES

7.4.1. Consumo de nutrientes:

Se midió a partir del día 3 de mediciones de cada período, durante 7 días consecutivos. Se midió la cantidad de alimentos (RTM y pastura) desaparecidos por diferencia entre la cantidad ofrecida y rechazada y se tomaron muestras de los alimentos ofrecidos y rechazados (en este último caso sólo si supera el 10% de lo ofrecido) para hacer las siguientes determinaciones: materia seca, cenizas, proteína cruda, fibra detergente neutro y fibra detergente ácido, según los métodos recomendados por la A.O.A.C. (1990). La concentración de energía neta de lactación de los alimentos se estimó según el N.R.C. (2001). La concentración de carbohidratos no fibrosos se estimó como: 100 - % proteína cruda - % fibra detergente neutro - % extracto al éter - % cenizas.

7.4.2. Determinación de metabolitos y hormonas en sangre:

Durante el último día del período de mediciones se obtuvieron muestras de sangre a las 0, 2, 4, 6, 8 y 10 horas luego del inicio de la alimentación. Según lo que se analizara se usaron tubos con distintos conservantes: fluoruro de potasio (glucosa), EDTA en primer lugar y pasaje a otro tubo con aprotinina (glucagón), o nada (insulina y urea). En el caso de los tubos para glucagón siempre se mantuvo una cadena de frío. Los tubos para glucosa y glucagón se centrifugaron inmediatamente para recolectar el plasma, y los tubos para insulina y urea se dejaron reposar por 1 hora a temperatura ambiente para luego centrifugar y extraer el suero. Se determinó la concentración de glucosa y urea usando kits comerciales que se basan en métodos enzimáticos-colorimétricos, usando un espectrofotómetro (Unico 1200 series, United Products & Instruments Inc, NJ, EEUU). El límite de detección del ensayo de glucosa y urea fue 0,013 y 0,21 mmol/L, respectivamente, y los coeficientes de variación intraensayo fueron menores a 10%. La determinación de la concentración de insulina se hizo con un ensayo inmunoradiométrico usando un kit comercial (DIAsource Immuno Assays S.A, Nivelles, Bélgica). La sensibilidad del ensayo fue de 1,7 μ UI/mL, y los coeficientes de variación intraensayo para el control 1 (9,6 μ UI/mL) y el control 2 (34,7 μ UI/mL) fueron 10,9% y 8,5%, respectivamente. La determinación de la concentración de glucagón se hizo mediante un radioinmunoensayo secuencial, usando un kit comercial (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Los Angeles, CA, EE.UU.). Los coeficientes de variación intraensayo para el control 1 (66,6 pg/mL) y el control 2 (235,4 pg/mL) fueron 8,5 % y 12,9 %, respectivamente.

7.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de consumo de nutrientes se analizaron con un modelo lineal mixto usando el paquete estadístico SAS (versión 9.1), que incluyó como efecto fijo el tratamiento y como efecto aleatorio al cuadrado, período y vaca dentro del cuadrado. Los resultados de metabolitos y hormonas en sangre se analizaron como medidas repetidas en el tiempo con un modelo lineal mixto, que además de los efectos ya mencionados, incluyó al efecto hora y tratamiento x hora. Las medias se compararon con el test de Tukey, y las medias se consideraron distintas si $P < 0,05$.

8. RESULTADOS

8.1. CONSUMO DE NUTRIENTES

El consumo total de materia seca por día fue mayor para T4 respecto a T8 ($P < 0,05$), no encontrándose diferencias con T0. En el mismo sentido, el consumo de proteína cruda y de energía neta de lactación fue mayor para los animales del T4 respecto a T8, mientras que no se encontraron diferencias con T0. Por otro lado, el consumo de FDN tendió a ser mayor en T4 respecto a T8 ($P < 0,10$), mientras que el consumo de FDA fue mayor en T4 respecto a T8 ($P < 0,05$), no encontrándose diferencias con T0. Sin embargo, al consumo de carbohidratos no fibrosos fue menor para T8 con respecto a los demás tratamientos.

Cuadro III. Consumo total diario de MS, MO, PC, FDN, FDA, CNF, y energía neta para lactación en vacas lecheras alimentadas con RTM con diferentes horas de acceso a una pastura templada de alta calidad.

| | T0 | T4 | T8 | EEM | P>F |
|-------------|---------|--------|--------|------|--------|
| MS, kg/d | 24,45ab | 25,63a | 22,61b | 1,58 | 0,0478 |
| MO, kg/d | 22,87ab | 23,80a | 20,93b | 1,52 | 0,0447 |
| PC, kg/d | 4,19ab | 4,33a | 3,81b | 0,24 | 0,0463 |
| FDN, kg/d | 9,66xy | 10,38x | 9,22y | 0,43 | 0,0788 |
| FDA, kg/d | 5,55ab | 5,93a | 5,31b | 0,37 | 0,0395 |
| CNF, kg/d | 8,59a | 8,61a | 7,47b | 0,88 | 0,0149 |
| ENL, Mcal/d | 39,1ab | 40,3a | 35,4b | 2,78 | 0,0372 |

T0 (24h RTM); T4 (20h RTM y 4h de pastura); T8 (16h de RTM y 8 de pastura); EEM: Error estándar de la media.

MS: materia seca; MO: materia orgánica; PC: proteína cruda; FDN: fibra neutro detergente; FDA: fibra ácido detergente; CNF: carbohidratos no fibrosos; ENL: energía neta para lactación.

Diferentes letras (a-b) en una misma fila indica diferencias significativas ($P < 0,05$)

Diferentes letras (x-y) en una misma fila indica diferencias significativas ($P < 0,10$)

8.2. METABOLITOS Y HORMONAS SANGUÍNEAS

Las concentraciones de glucosa en plasma fueron afectadas por el efecto del tratamiento ($P = 0,0172$) pero no presentaron efecto en la hora ($P > 0,05$) ni en el tratamiento por hora, siendo mayor para el T0 respecto a los demás tratamientos, encontrándose diferencias significativas entre T0 y T8, mientras que T4 no tuvo diferencias con los demás tratamientos.

Cuadro IV. Concentración media de metabolitos (glucosa y urea) y hormonas sanguíneas (insulina y glucagón) en vacas lecheras alimentadas con RTM con diferentes horas de acceso a una pastura templada de alta calidad.

| | T0 | T4 | T8 | EEM | P > F | | |
|-----------------------|-------|--------|-------|------|--------|--------|-------------|
| | | | | | Trat | Hora | Trat x hora |
| Glucosa, mmol/L | 4,3a | 4,2ab | 4,1b | 0,16 | 0,0172 | ns | ns |
| Urea, mmol/L | 6,7 | 6,5 | 6,2 | 0,32 | ns | ns | 0,0144 |
| Insulina, μ UI/ml | 28,1a | 24,5ab | 23,1b | 2,25 | 0,0233 | 0,0002 | ns |
| Glucagón, pg/ml | 105,9 | 106,4 | 104,3 | 13,4 | ns | ns | ns |

T0 (24h RTM); T4 (20h RTM y 4h de pastura); T8 (16h de RTM y 8 de pastura); EEM: Error estándar de la media; Trat: efecto del tratamiento; Hora: efecto de la hora; TratxH: interacción hora por tratamiento.

Diferentes letras (a-b) en una misma fila indica diferencias significativas ($P < 0,05$)
ns = no significativo

Las concentraciones de urea en suero fueron afectadas por la interacción tratamiento por hora ($P = 0,0144$) pero no presentaron efecto del tratamiento ($P > 0,05$) y tampoco del efecto hora ($P > 0,05$). Las concentraciones de urea no fueron diferentes entre tratamientos a las horas 0, 2, 6 y 10 de medición, mientras que a la hora 4 fueron mayores en T0 en comparación a T8 (T4 no fue diferente ni de T0 ni de T8) y a la hora 8 fueron mayores en T4 en comparación a T8 (T0 no fue diferente ni de T4 ni de T8).

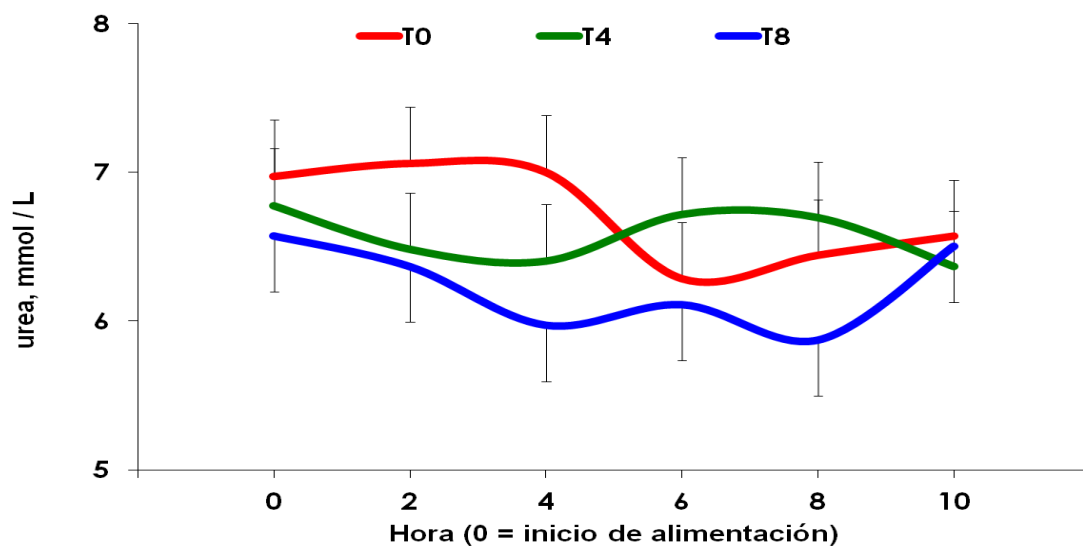


Figura 1. Dinámica de la concentración de urea (mmol/L) en vacas lecheras alimentadas con RTM con diferente tiempo de acceso a pasturas templadas: 2, 4, 6, 8 y 10 h/día (T0, T4y T8 respectivamente). La hora 0 indica el momento de inicio de la alimentación.

Las concentraciones de insulina en suero fueron afectadas por el efecto hora ($P = 0,0002$) y también por el efecto tratamiento ($P = 0,0233$), pero no se vieron afectadas en la interacción tratamiento por hora ($P > 0,05$). La concentración media de insulina fue mayor para el T0 respecto al T8, mientras que T4 no difirió con respecto a los demás tratamientos.

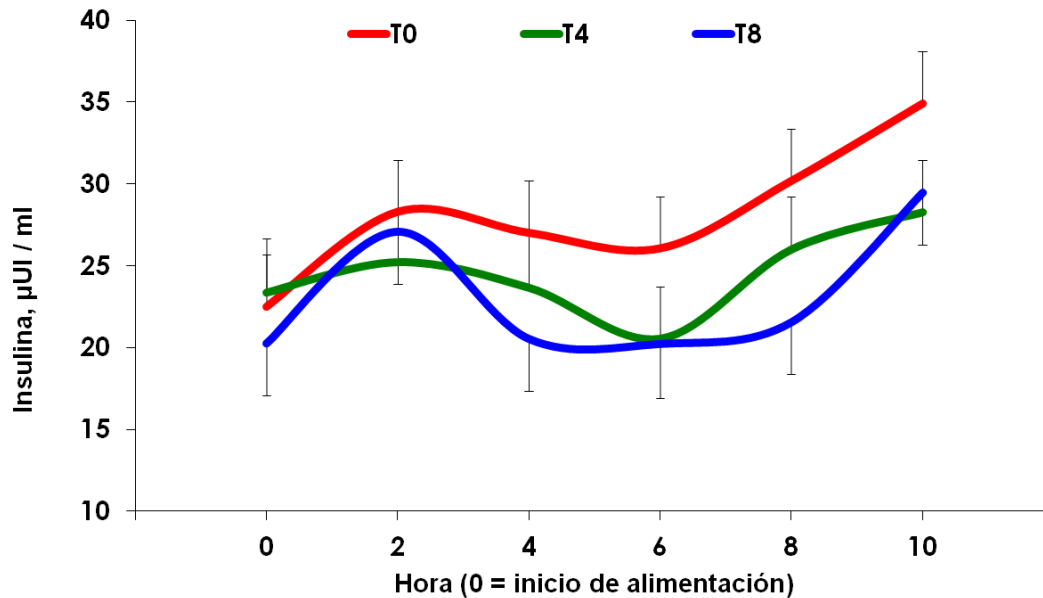


Figura 2. Dinámica de la concentración de insulina ($\mu\text{UI}/\text{ml}$) en vacas lecheras alimentadas con RTM con diferente tiempo de acceso a pasturas templadas: 2, 4, 6, 8 y 10 h/día (T0, T4y T8 respectivamente). La hora 0 indica el momento de inicio de la alimentación.

Con respecto a las concentraciones de glucagón en plasma no hubo efectos de tratamiento, hora o interacción tratamiento por hora.

9. DISCUSIÓN

En el presente trabajo, el menor consumo total de materia seca (MS) se observó en T8, es decir el tratamiento con mayor proporción de pastura en la dieta. Esto podría haberse debido al bajo contenido de MS del forraje usado, que podría haber limitado el consumo de los animales en T8 (Chilibroste, 1998). Los resultados coinciden con el trabajo de Bargo y col. (2002) que reportaron que el consumo de MS del tratamiento solo pastura fue menor al tratamiento sólo RTM o RTM más pastura. Resultados parecidos observó Santana y col. (2012), donde el consumo de MS fue del 2,7% del peso vivo para el tratamiento solo pastura, siendo de 2,8% y 3,4% para los tratamientos RTM y RTM más pastura respectivamente. Otros investigadores que obtuvieron similares resultados fueron Kolver y Muller (1998) en trabajos realizados en vacas lecheras consumiendo una pradera mezcla de gramíneas y leguminosas, donde reportaron un mayor consumo en animales consumiendo solo RTM respecto a solo pastura.

En nuestro trabajo encontramos diferencias significativas en el consumo de MS y materia orgánica entre T4 y T8, mientras que T0 no tuvo diferencias con los demás tratamientos. Esto coincide con varios trabajos (Vibart y col., 2008; Morales y col., 2010; Santana 2012) quienes no encontraron diferencias entre el consumo de vacas lecheras o vaquillonas consumiendo solo RTM o RTM más pasturas. Uno de los factores que podría explicar la diferencia entre T4 y T8 sería que existiera una respuesta de adición con sustitución en T4, una menor oferta de MS en T8 y el comportamiento animal. Como era esperable, los animales del T4 obtuvieron mayores consumos de energía y proteína con respecto a T8, mientras que T0 no difirió de los demás tratamientos.

El hígado es el principal órgano formador de glucosa, el cual emplea como principales sustratos al propionato, lactato, aminoácidos y glicerol. El propionato es el principal precursor hepático, a partir del cual se sintetiza del 25 al 55% de la glucosa, dependiendo de su producción ruminal, llegando a un 65% cuando la dieta es rica en almidón (Reilling y Mattioli 2003). El mayor consumo de carbohidratos no fibrosos de T0 respecto a T8 explicaría parcialmente los resultados obtenidos, en los cuales existen mayores concentraciones de glucosa en T0, coincidiendo con lo reportado por Santana (2012). Delany y col. (2010) también encontraron mayores niveles de glucosa en vacas lecheras alimentadas con RTM respecto a vacas manejadas a pastoreo y suplementadas con granos. Según los investigadores, sus resultados probablemente se explicarían por una mayor ingesta de nutrientes en las vacas con RTM, que supera los requisitos de la glándula mamaria para la producción de leche, resultando en una mayor oferta de los precursores de la gluconeogénesis hepática. También la digestión postruminal del almidón del ensilado de maíz puede haber dado lugar a la absorción directa de glucosa desde el intestino delgado, lo que contribuye aún más a explicar las altas concentraciones de glucosa en plasma de las vacas con dieta RTM.

Ingvartsen y Friggens (2005) demostraron que la insulina es un importante regulador de la glucosa en plasma en vacas de alto rendimiento en el comienzo de la lactancia y hacia la mitad de la misma para mantener el balance energético. Por otra parte, Herbein y col. (1985) también encontraron una mayor concentración plasmática de

glucosa, insulina y glucagón en las vacas que consumían una RTM ad libitum que las vacas a pastoreo con suplemento. También encontraron que la concentración plasmática de insulina y glucagón parecía estar relacionada con la disponibilidad de glucosa en vacas en lactación y que, la lactancia y la preñez aumentaron los requisitos de glucosa. En este sentido producciones de leche más altas se produjeron con concentraciones de glucagón más altas y más bajas de insulina según estos autores, la relación insulina-glucagón más baja en la lactancia temprana facilitaría la utilización de sustratos para satisfacer los requisitos de glucosa. Por otro lado Oltner y Wiktorsson (1983) encontraron que la dieta no tiene efecto sobre la concentración de glucosa en plasma de vacas lecheras, aunque en su trabajo los animales habían pasado la mitad de la lactancia y su demanda de glucosa no era elevada.

La insulinemia de los animales en tratamiento T0 fue mayor que para T8, asociado a la mayor glicemia que presentaban estos animales, ya que su principal función es regular los niveles sanguíneos de glucosa (Reilling y Mattioli, 2003). Estos resultados coinciden con el trabajo de Santana (2012), donde también encontró mayores valores de insulina en plasma en los animales que consumían solo RTM respecto de los grupos cuya dieta era solo pastura o pastura más RTM. Resultados similares reportaron Delany y col. (2010), quienes encontraron mayores niveles de insulina en las vacas que consumían RTM respecto de las vacas cuya dieta era pastura fresca y grano como suplemento, asociado a los mayores niveles de glucosa en plasma de las vacas que consumían RTM.

En lo que respecta al glucagón no se encontraron variaciones entre los tratamientos, lo que puede estar explicado en que si bien los animales del tratamiento T0 tuvieron mayor concentración de glucosa que los demás, todos los tratamientos cubrieron los requerimientos energéticos de los animales por lo que en ningún caso se produjo una diferencia significativa de liberación de glucagón, para aumentar los niveles de glucosa en sangre. Delany y col. (2010), encontraron contrariamente que la concentración de glucagón y la relación insulina:glucagón fue mayor en las vacas que consumían RTM; este aumento podía ser simplemente explicado por una mayor secreción de insulina en las vacas RTM en comparación con las alimentadas con pastura y grano.

Si bien el consumo de proteína fue mayor en las vacas de T4 respecto a T8, no hubo diferencias en la concentración promedio de urea en plasma. Sin embargo, a distintas horas fue menor dicha concentración en T8 respecto a T0 o T4. Esto puede estar asociado a que las vacas de T8 dedicaron poco tiempo a alimentarse y lo hicieron a una baja tasa de consumo durante la mayor parte del período del día en que se hicieron los sangrados, que era cuando se les ofrecía pastura (Mendoza y col., 2012). También hay que señalar que según Oltner y Wiktorsson (1983) el principal factor en influir en el contenido de urea en leche es la relación energía – proteína de la dieta, y no la cantidad de proteína de la misma. También encontraron que existe una alta correlación (0,98) entre la concentración de urea en leche y en plasma.

Otros autores como Olmos y col. (2009) observaron menores concentraciones de urea en las vacas cuya dieta era a base de pasturas con suplemento, que en las

que estaban en confinamiento. También Vibart y col. (2008) observaron en vacas lecheras en lactación que el nivel de urea en plasma disminuía en forma lineal a medida que se le suministraba una mayor proporción de pastura en la dieta, la cual tenía un menor porcentaje de proteína bruta que el RTM. Contrariamente Santana (2012) encontró mayores niveles de urea plasmática en vaquillonas alimentadas solo con pastura respecto a pastura más RTM o solo RTM.

10. CONCLUSIONES

Se concluye que vacas alimentadas con una dieta RTM y con 4 horas de acceso a una pastura templada de alta calidad, podrían mantener altos niveles de consumo de nutrientes al igual que en un sistema de alimentación solo RTM, mientras que con 8 horas de acceso a la pastura el consumo se vería disminuido. Un acceso de 8 horas diarias a una pastura templada de alta calidad también redujo la concentración sanguínea de glucosa e insulina, pero no tuvo efecto sobre la concentración de urea o glucagón.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- AOAC. (1990). Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of analysis. 15a ed. Arlington, AOAC, 2 Vol.
- 2- Bargo, F., Muller, L.D., Varga, G.A., Delahoy, J.E., Cassidy, T.W. (2002). Ruminant 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.
- 3- Bell, A.W., Bauman D.E. (1997). Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. *J Mamm Gland Biol Neop*; 2: 265- 278.
- 4- Bloom, S.R., Edwards, A.V. (1985). Pancreatic neuroendocrine responses to butyrate in conscious sheep. *J Physiol*; 364: 281–288.
- 5- Brockman, R.P, Laarveld, B. (1986). Hormonal regulation of metabolism in ruminants. *Livest Prod Sci*; 14: 313—334.
- 6- Cajarville, C., Repetto, J.L. (2005). Uso de concentrados para optimizar el aprovechamiento digestivo de las pasturas. XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. 10 de junio. Paysandú, Uruguay, pp.121-128.
- 7- Cajarville, C., Mendoza, A., Santana, A., Repetto, J.L. (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.
- 8- Chilbroste, P (1998). Fuentes comunes de error en la alimentación del ganado lechero en pastoreo: I. Predicción del consumo. Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay, pp.1-18.
- 9- Conrad, H.R., Pratt, A.D., Hibbs, J.W. (1964). Regulation of feed intake in dairy cows. I. Changes in importance of physical and physiological factors with increasing digestibility. *J Dairy Sci*; 47: 54-62.
- 10-Delany, K.K, Macmillan, K.L, Grainger, C, Thomson, P.C., Blache, D., Nicholas, K.R., Auldist, M.J. (2010). Blood plasma concentrations of metabolic hormones and glucose during extended lactation in grazing cows or cows fed a total mixed ration. *J Dairy Sci*; 93: 5913–5920.
- 11-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.
- 12-Faverdin, P. (1999). The effect of nutrients on feed intake in ruminants. *Proc Nut Soc*; 58: 523–531.

- 13-González, F.H.D. (2000).** Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutricao e doencas nutricionais. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Federal de Rio Grande do Sul, Brasil. 108 p.
- 14-Hanson, G.D., Cunningham, L.C., Morehart, M.J., Parsons, R.I. (1998).** Profitability of moderate intensive grazing of dairy cows in the Northeast. *J. Dairy Sci.* 81: 821–829.
- 15-Herbein, J.H., Aiello, R.J., Eckler, L.I., Pearson, R.E., Akers, R.M. (1985).** Glucagon, insulin, growth hormone, and glucose concentrations in blood plasma of lactating dairy cows. *J Dairy Sci*; 68: 320-325.
- 16-Hodgson, J. (1990).** Grazing management: Science into practice. Harlow, Longman Scientific and Technical, p 203.
- 17-Huntington, G.B, Archibeque, S.L. (1999).** Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants. *J Anim Sci*; 77 (Suppl. 1): 1-11.
- 18-Ingvarsen, K.L, Friggens N.C. (2005).** To what extent do variabilities in hormones,metabolites and energy intake explain variability in milk yield? *Dom Anim Endocrinol*; 29: 294–304.
- 19-Kolver, E.S. (2003).** Nutritional limitations to increased production on pasture-based systems. *Proc Nut Soc*; 62: 291–300.
- 20-Kolver, E.S., Muller, L.D. (1998).** Performance and nutrient intake of high producing Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J Dairy Sci*; 81: 1403–1411.
- 21-Lammers, B.P., Heinrichs, A., Ishler, V.A. (2002).** Uso de ración total mezclada (TMR) para vacas lecheras. Departamento de Ciencias Animales, Universidad Estatal de Pennsylvania.
Disponible en: www.das.psu.edu/teamdairy. Fecha de consulta: 7/3/13
- 22-Mendoza, A., Cajaville, C., Santana, A., Repetto, J.L. (2011).** ¿Hacia una nueva forma de pensar las alimentación de las vacas lecheras? La inserción del confinamiento en los sistemas pastoriles de producción de leche. XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría. 9 de junio. Paysandú, Uruguay. pp. 82-90.
- 23-Mendoza, A., Cajaville, C., Colla, R., Gaudenti, G., Martín, M.E., Repetto, J.L. (2012).** Dry matter intake and behavior patterns of dairy cows fed diets combining pasture and total mixed ration. *J Dairy Sci*; 95 (Suppl.2): 716 (abstract).
- 24-Morales, A., Soldado, A., González, A., Martínez, A., Domínguez, I., de la Roza, B., Vicente, F. (2010).** Improving the fatty acid profile of dairy cow milk by combining grazing with feeding of total mixed ration. *J Dairy Sci*; 77: 225-230.

- 25-NRC.** National Research Council. (2001). Nutrient requirements of dairy cattle. 7a. ed. Washington D.C., National Academy Press. 381 p.
- 26-Olmos, G., Mee, J.F, Hanlon, A, Patton, J., Murphy, J., Boyle, L. (2009).** Peripartum health and welfare of Holstein-Friesian cows in a confinement-TMR system compared to a pasture-based system. *Anim Welf*; 18: 467-476.
- 27-Oltner, R., Wiktorsson, H. (1983).** Urea concentrations in milk and blood as influenced by feeding varying amounts of protein and energy to dairy cows. *Livest Prod Sci*; 10: 457-467.
- 28-Relling, A.E., Mattioli, G.A. (2003).** Absorción y destino metabólico de los nutrientes. En: Relling A. E; Mattioli G. A. *Fisiología Digestiva y Metabólica de los Rumiantes*. La Plata, EDULP. p: 44-64.
- 29-Repetto, J.L., Cajarville, C. (2009).** ¿Es posible lograr la sincronización de nutrientes en sistemas pastoriles intensivos? XXXVII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay, p: 60-67.
- 30-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.
- 31-Rushen, J., de Passillé, A.M., von Keyserlingk, M., Weary, D.M. (2008).** Housing for adult cattle. En: *The welfare of cattle*. Amsterdam, Springer. pp 142-180.
- 32-Santana, A. (2012).** Inclusión de pastura templada en una dieta completamente mezclada en vaquillonas: Efectos sobre el consumo, el aprovechamiento digestivo y metabólico de los nutrientes. Tesis de Maestría en Nutrición de Rumiantes. Facultad de Veterinaria. Universidad de la República. Uruguay. 45 p.
- 33-Sniffen, C.J., O'Connor, J.D., Van Soest, P.J., Fox, G., Russell, J.B. (1992).** A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: 11. Carbohydrate and protein availability. *J Anim Sci*; 70: 3562-3577.
- 34-Squires, E.J. (2010).** Applied animal endocrinology. 2a ed. Wallingford, CAB, 281 p.
- 35-Van Soest, P.J. (1994).** Microbes in the Gut. En: P. J. Van Soest, *Nutritional Ecology of the Ruminant* 2a ed. New York, Cornell University Press. pp 253-280.
- 36-Vibart, R.E., Fellner, V., Burns, J.C., Huntington, G.B., Green, J.T. (2008).** Performance of lactating dairy cows fed varying levels of total mixed ration and pasture. *J Dairy Sci*; 75: 471–480.

37-Whitaker, D.A. (2004). Metabolic profiles. En: Andrews, A.H., Blowey, R.W., Boyd, H., Eddy, R.G. Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of Cattle. Oxford, Blackwell, pp. 804-817.