

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON TANINOS O DEL MOMENTO  
DE PASTOREO SOBRE EL CONSUMO Y EL DESEMPEÑO  
PRODUCTIVO DE VACAS LECHERAS EN LACTANCIA MEDIA**

**por:**

**RAMÍREZ PEÑA, Alan Jhons**

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

MODALIDAD: Ensayo Experimental

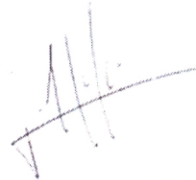
**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2021**

Tesis aprobada por:

Presidente de Mesa:

  
DCV., MSc., Germán Antúnez Tort


Segundo Miembro (Tutor):

  
DMTV., PhD. José Luis Repetto

Tercer miembro:

  
DMTV., MSc., Phd., Silvana Carro

Cuarto miembro (Co-Tutor):

  
Ing. Zoot., MSc., PhD., Claudio Pozo

Fecha de aprobación:

23 de Julio del 2021

Autor:

  
Br. Alan Ramírez

## **AGRADECIMIENTOS**

Al tutor Dr. José Luis Repetto y co-tutor Claudio Pozo por guiarme y apoyarme en este trabajo.

A todo el personal del campo experimental N° 2 de la facultad de veterinaria, en especial a Yanela Mena y Walter Machín por el apoyo brindado.

A mi familia, amigos y compañeros por el apoyo brindado durante toda la carrera.

# TABLA DE CONTENIDO

	PÁGINA
PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE TABLAS	5
LISTA DE ABREVIATURAS	6
1 RESUMEN	7
2 SUMMARY	8
3 INTRODUCCIÓN	9
4 REVISION BIBLIOGRAFICA	11
4.1 Metabolismo de la proteína en situaciones de exceso de Nitrógeno soluble	11
4.2 Taninos como aditivos para reducir la degradabilidad ruminal de la proteína	13
4.3 Manejo del pastoreo para aumentar la concentración de CS de la pastura	16
5 HIPÓTESIS	19
6 OBJETIVOS	19
7 MATERIALES Y MÉTODOS	20
7.1 Consumo	21
7.2 Producción y Composición de la leche	22
7.3 Composición química de los alimentos	22
7.4 Análisis estadísticos	23
8 RESULTADOS	24
9 DISCUSIÓN	26
10 CONCLUSIONES	28
11 BIBLIOGRAFIA	29
	4

## LISTA DE TABLAS

**Tabla 1.** Efecto de diferentes niveles de inclusión de taninos de *Acacia mearnsii* en la dieta de vacas lecheras sobre el consumo, producción y composición de la leche. **(Pág. 15)**

**Tabla 2.** Efecto del momento de acceso al pastoreo sobre la producción y composición de la leche. **(Pág. 18)**

**Tabla 3.** Composición química de la RTM y la pastura pastoreada en la mañana (A.M.) o en la tarde (P.M.). **(Pág. 23)**

**Tabla 4.** Efecto del TA y del manejo del pastoreo sobre el consumo de nutrientes. **(Pág. 24)**

**Tabla 5.** Efecto del TA y el manejo del pastoreo sobre la producción y composición de la leche. **(Pág. 26)**

## LISTA DE ABREVIATURAS

AA:	aminoácidos
AG:	ácidos grasos
AM:	pastoreo de mañana y RTM de tarde
AMt:	pastoreo de mañana y RTM de tarde con adición de 15g de taninos/kg MS
CMS:	consumo de materia seca
CNF:	carbohidratos no fibrosos
CS:	carbohidratos solubles
EE:	extracto de éter
EM:	energía metabolizable
FDA:	fibra detergente ácido
FDN:	fibra detergente neutro
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :	ácido sulfúrico
LCG:	leche corregida por grasa
MO:	materia orgánica
MS:	materia seca
N:	nitrógeno
NH <sub>3</sub> :	amoníaco
PB:	proteína bruta
PM:	RTM de mañana y pastoreo de tarde
RTM:	ración totalmente mezclada
TA:	extracto de taninos de <i>Acacia mearnsii</i>

## 1. RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la adición de extracto de taninos de *Acacia mearnsii* (**TA**) en la dieta o del momento de pastoreo sobre el consumo de nutrientes y el desempeño productivo de vacas lecheras alimentadas con una dieta que combina pastura con ración totalmente mezclada (**RTM**). Fueron utilizadas 9 vacas de raza Holando, bloqueadas y distribuidas en un diseño de 3 cuadrados latinos 3 x 3 por triplicado, en 3 períodos de 22 días cada uno. Los animales en cada cuadrado latino recibieron 3 tratamientos experimentales que fueron: pastoreo por la mañana + RTM por la tarde (**AM**); pastoreo por la mañana + RTM con 15 g TA/kg de materia seca (**MS**) por la tarde (**AMt**); y RTM por la mañana + pastoreo por la tarde (**PM**). El consumo de nutrientes fue similar para todos los tratamientos, sin embargo, PM tendió a aumentar el porcentaje de pasto en la dieta y aumentar el consumo de carbohidratos solubles. Los tratamientos no afectaron la producción de leche ni la producción de los componentes de la leche. La inclusión de TA en la dieta tiende a reducir el porcentaje de proteína y caseína en leche, sin afectar la producción total de las mismas. Se concluye que la adición de TA en la RTM no afecta el consumo ni el desempeño productivo de las vacas lecheras. Por otro lado, el pastoreo por la tarde demostró ser una estrategia para aumentar el porcentaje de pasto consumido en dietas que combinan RTM con pastura.

## 2. SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the effect of the addition of *Acacia mearnsii* tannin extract (TA) in the diet or the grazing moment time on the nutrient consumption and productive performance of dairy cows fed a diet that combines pasture with total mixed ration (TMR). Nine Holstein cows were used, blocked and distributed in a design of 3 Latin squares 3 x 3 in triplicate, in 3 periods of 22 days each. The animals in each Latin square received 3 experimental treatments which were: morning grazing + TMR in the afternoon (AM); morning grazing + TMR with 15 g TA/kg of dry matter in the afternoon TMR (AMt); and morning TMR + afternoon grazing (PM).

Nutrient intake was similar for all treatments, however PM tends to increase the percentage of grass in the diet and increases the consumption of soluble carbohydrates. The treatments did not affect milk production or the production of milk components. The inclusion of TA in the diet tends to reduce the percentage of protein and casein in milk, without affecting their total production. It is concluded that the addition of TA in TMR or afternoon grazing does not affect the productive performance of dairy cows. On the other hand, afternoon grazing proved to be a strategy that would increase the percentage of pasture consumed in diets that combine TMR with pasture.



### 3. INTRODUCCIÓN

Gran parte de la producción lechera en Uruguay se ha basado tradicionalmente en el pastoreo de forrajes templados, que son una alternativa de relativo bajo costo y poseen un alto valor nutritivo, permitiendo sostener niveles de producción moderados (Cajarville, Mendoza, Santana y Repetto, 2012). Sin embargo, en condiciones de pastoreo el consumo de materia seca total, y por lo tanto la ingesta de nutrientes es menor con respecto a otros sistemas de alimentación, por lo que el potencial de producción de leche no se explota completamente (Kolver, 2003). Por el contrario, los sistemas de ración totalmente mezclada (**RTM**), que proporcionan una ración equilibrada, permiten alcanzar niveles más altos de consumo, producción y eficiencia nutricional (Bargo, Muller, Delahoy y Cassidy, 2002a; Kolver y Muller, 1998).

El uso de dietas mixtas combinando pasturas con RTM, podría ser una alternativa nutricional con potencial para retener las ventajas de ambos sistemas de alimentación. De esta forma, estudios recientes demostraron que el uso de dietas mixtas permite niveles similares de ingesta y producción que las dietas RTM (Dall-Orsoletta, Almeida, Carvalho, Ribeiro-Filho, 2016; Mendoza, Cajarville y Repetto, 2016b). Sin embargo, en estudios con dietas mixtas la eficiencia de conversión del nitrógeno (**N**) ingerido en N excretado en leche es inferior al 27% (Bargo et al., 2002a; Mendoza, Cajarville y Repetto., 2016a; Pastorini, Pomiés, Repetto, Mendoza y Cajarville, 2019), valores que se encuentran considerablemente por debajo del límite superior teórico de eficiencia en el uso del N (43%, Dijkstra et al., 2013). Esto refleja una dieta desequilibrada generalmente como consecuencia de la incorporación de pasturas con altos contenidos de N degradable en el rumen.

En dietas que combinan RTM con pasto, hay dos estrategias fácilmente aplicables con potencial para mejorar la utilización del N ingerido y el desempeño productivo: 1) reducir la degradabilidad ruminal del N alimentario a través de la adición de taninos en la RTM; 2) aumentar la relación energía/N en el rumen a través del manejo del horario de pastoreo debido a un mayor contenido en azúcares solubles en la tarde.

A pesar del uso de diferentes mecanismos, ambas estrategias buscan aumentar el aporte de proteína metabolizable, lo que podría verse reflejado en un mayor desempeño productivo.

Aunque el uso de extracto de taninos de *Acacia mearnsii* (**TA**) y el manejo del horario de pastoreo han sido previamente evaluados como estrategias para mejorar el uso del N alimentario y la producción, la mayor parte de la información disponible proviene de sistemas de alimentación con dietas exclusivamente RTM o pastoriles con o sin suplementación. De esta manera, es necesario dilucidar el impacto de estas estrategias sobre el consumo y la producción en vacas lecheras alimentadas con una dieta que combine pasto con RTM.

## 4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 4.1. Metabolismo de la proteína en situaciones de exceso de Nitrógeno soluble

En los sistemas de producción de leche en base a pasturas templadas, usualmente los animales consumen una dieta con altos contenidos de proteína bruta de alta solubilidad y degradabilidad en el rumen (Repetto et al., 2005). En esta situación nutricional, la proteína a nivel del rumen se hidroliza fácilmente por proteasas extracelulares a péptidos y aminoácidos (**AA**) (Wallace, Onodera y Cotta, 1997) que son capaces de entrar en la célula bacteriana. Dentro de la célula, los péptidos se degradan por peptidasas a AA. Tanto los AA que ingresaron en la célula como aquellos resultantes de la hidrólisis intracelular de péptidos pueden ser incorporados en proteínas, o desaminados y metabolizados a ácidos grasos volátiles y amoníaco (**NH<sub>3</sub>**), que se liberan al medio extracelular. Sin embargo, las bacterias ruminales sintetizan la mayor parte de sus proteínas usando AA sintetizados “de novo” a partir de NH<sub>3</sub> y α-cetoácidos (ácidos grasos volátiles de cadena ramificada resultantes de la desaminación de AA de cadena ramificada) (Bach, Calsamiglia y Stern, 2005).

En la situación mencionada inicialmente, la producción de NH<sub>3</sub> supera la capacidad de captación por parte de las bacterias, lo que resulta en un aumento de la concentración de NH<sub>3</sub> en el contenido ruminal. El NH<sub>3</sub> se absorbe por difusión pasiva, por lo que este proceso es altamente dependiente de su concentración y del pH del rumen. El NH<sub>3</sub> absorbido pasa a la sangre portal y se conduce al hígado donde es captado y metabolizado. El NH<sub>3</sub> ingresa en la mitocondria del hepatocito, donde entra vía carbamoil-fosfato en el ciclo de la urea (Kozloski, 2011).

En sistemas a pasto, alrededor de 30% del N ingerido se excreta con la orina en forma de urea (Lazzarini, 2010), que representa el principal compuesto nitrogenado (Bristow, Whitehead, Cockburn, 1992). Entonces, cuando el N se consume por encima de las necesidades de los animales hay un aumento en las excreciones de N, principalmente en la forma de urea, en la orina (Hoekstra, Schulte, Struik, Lantinga, 2007). En un

experimento con vacas lecheras en pastoreo se reportaron excreciones de N urinario que correspondieron al 33,2% del N ingerido (Bargo, Muller, Delahoy y Cassidy, 2002b). En los estudios con vacas lecheras alimentadas con dietas que combinan pasto con RTM, las excreciones de N urinario correspondieron entre el 28 y el 46% del N ingerido (Mendoza et al., 2016a; Pastorini et al., 2019), valores que ponen de manifiesto a la baja la eficiencia del uso del N alimentario.

Mejorar el uso de la proteína alimentaria, reduciendo sus pérdidas en forma de N y urea en la orina, es relevante ya que la proteína es un nutriente con un costo económico comparativamente más elevado que la energía. Además, la transformación de  $\text{NH}_3$  a urea involucra procesos metabólicos que generan un costo de energía para el animal (Reed, Bonfá, Dijkstra, Casper y Kebreab, 2017). Los excesos de N en la dieta también están asociados a problemas reproductivos (Butler, 1998; Gehman, 2006; McCormick, Redfearn, Ward y Blouin, 2001), a efectos negativos sobre la calidad de la leche y sus derivados (Bendall, 2001; Martin, Coulon, Chamba y Bugaud, 1997), y la contaminación del medio ambiente, principalmente a través de las excreciones del N urinario (Pacheco y Waghor, 2008).

## 4.2. Taninos como aditivos para reducir la degradabilidad ruminal de la proteína

Los taninos son compuestos vegetales polifenólicos que en el rumen presentan la capacidad de formar complejos principalmente con las proteínas (Carulla y Pabón, 2004). Estos complejos, permiten reducir la degradabilidad ruminal de la proteína, aumentando así la proteína de pasaje. Como estas interacciones son reversibles a pH mayores a 8 o menores a 3,5, al llegar al abomaso y/o duodeno estos complejos se disociarían (Frutos, Hervás, Giráldez y Mantecón, 2004)

Numerosos estudios científicos evaluaron los efectos de diferentes tipos de taninos en la alimentación de rumiantes con resultados muy variables, a veces positivos y negativos en otros. La variabilidad de respuesta a estos aditivos depende principalmente del nivel de incorporación en la dieta y del tipo de tanino (Mueller-Harvey, 2006; Waghorn, 2008), pero también de los otros componentes de la dieta, la especie y la fisiología del animal consumidor (Hagerman y Butler, 1991). En general, entre los principales efectos negativos encontramos la disminución del consumo y de la digestibilidad del alimento (Silanikove, Perevolotsky y Provenza, 2001), que usualmente afectan negativamente a la producción (Grainger et al., 2009). Entre los efectos positivos de estos aditivos alimentarios se destacan la reducción de la degradabilidad ruminal de la proteína (Carulla, Kreuzer, Machmüller y Hess, 2005), el aumento del flujo de aminoácidos disponibles para el duodeno (Orlandi, Kozloski, Alves, Mesquita y Ávila, 2015; Waghorn, 1996), la reducción de la excreción urinaria de N y urea (Aguerre, Capozzolo, Lencioni, Cabral y Wattiaux, 2016; Henke et al., 2017), la reducción de las emisiones de metano entérico (Grainger et al., 2009; Alves, Dall-Orsoletta y Ribeiro-Filho, 2017b) y en algunos casos la mejora de los índices productivos de los animales (Dschaak et al., 2011). Debido a las fuentes de variación de los resultados en relación a la utilización de diferentes tipos de taninos en la dieta de rumiantes, esta sección se centrará en trabajos realizados con taninos de *Acacia mearnsii*.

Las publicaciones que reporta el efecto de la suplementación con TA en la dieta de vacas lecheras sobre el consumo, la producción y la composición de la leche se

presentan en la Tabla 1 (extraída de Pozo, 2018). En estos estudios, independientemente de la composición de la dieta, y excluyendo el estudio de Grainger y col. (2009), reportan que las inclusiones de TA entorno 0,6 a 1,2% de la dieta no afectan el consumo ni el desempeño de las vacas lecheras. Sin embargo, con inclusiones de TA en el orden del 1,9 (Grainger et al., 2009) y el 2,9% de la dieta (Griffiths, Clark, Clark y Waghorn, 2013) la producción de leche se redujo de manera significativa en un 30 y un 11% respectivamente, principalmente debido a una reducción del consumo. En los estudios de Aprianita, Donkor, Moate y Williams (2014) y Gerlach, Pries, Tholen y Schmithausen (2018), la incorporación de TA entre 1,6 y 3% de la dieta no afectó el consumo ni la producción de leche, sin embargo, la producción total de proteína de la leche fue disminuida.

**Tabla 1.** Efecto de diferentes niveles de inclusión de taninos de *Acacia mearnsii* en la dieta de vacas lecheras sobre el consumo, producción y composición de la leche.

Referencia	Días en lactación	Alimento	PB (% MS)	TA (% MS)	Efectos
Grainger et al., 2009	32	Rye grass + triticale	22,0	0,9 y 1,5	↓ producción y sólidos en leche
	75	Rye grass + triticale	16,0	1,1 y 1,9	↓ consumo, producción de leche y sólidos
Griffiths et al., 2013	82	Rye grass y trébol blanco	19,8	0,6, 1,4 y 2,9	Sin efectos en dosis bajas; 2,9 % de TA en dieta ↓ producción y sólidos en leche
	77	Rye grass y trébol blanco + concentrado	23,1	1,2	Sin efectos
Aprianita et al., 2014	39	Heno de alfalfa + concentrado	20,5	1,6	Sin efectos en consumo, producción de leche, ↓ producción de proteína en leche
Maciel Dias, 2016	-	Festuca y trébol blanco + RTM		1,5	Sin efectos en la producción y sólidos en leche
Alves et al., 2017a	150	Avena y rye grass + concentrado	16,5	1,4	↑ consumo; Sin efectos en la producción y sólidos en leche
Alves et al., 2017b	143	Mijo + concentrado	17,7	0,6	Sin efectos en consumo ni la producción de leche y sólidos
Gerlach et al., 2018	49	RTM	15,7	1,0	Sin efectos en consumo ni la producción de leche y sólidos
	70	RTM	16,0	3,0	Sin efectos en consumo ni la producción de leche y grasa; ↓ producción de proteína en leche
Orlandi, 2016	35	Rye grass + concentrado	22,6	0,6	Sin efectos en la producción de leche y sólidos

Fuente: Pozo, C. 2018

### **4.3. Manejo del pastoreo para aumentar la concentración de carbohidratos solubles de la pastura**

Las pasturas sufren cambios diarios en su composición química, que están relacionados a tres procesos fisiológicos principales: la fotosíntesis, la respiración y la transpiración (Griggs, Macadam, Mayland y Burns, 2005; Mayland, Macadam, Shewmaker y Chatterton, 2003). La pérdida de agua durante las horas de luz resulta de una disminución de agua superficial por evaporación y de una pérdida de agua interna debido al balance negativo entre la absorción y la transpiración, que juntamente con la síntesis de carbohidratos determina un incremento en el contenido de materia seca del forraje (Orr, Rutter, Penning y Rook, 2001). Como consecuencia, se produce un aumento en las concentraciones de carbohidratos solubles (**CS**), con una dilución de las concentraciones de las fracciones fibrosas y la proteína bruta (**PB**). Esto permite un aumento de la relación CS/PB en la planta (Cajarville et al., 2015).

El concepto de sincronización de nutrientes se refiere al hecho de proporcionar al sistema ruminal, fuentes de proteína y energía en forma simultánea y en las cantidades necesarias para optimizar su uso por la microbiota asociada (Hall y Huntington, 2008). Considerando que los CS tienen una alta velocidad de fermentación, en pasturas con alto contenido de N soluble, beneficiaría un rápido aumento de la biomasa microbiana y una mayor utilización del N soluble, y en consecuencia un mayor suministro de nutrientes para el animal (Berchielli, Vaz Pires y Oliveira de, 2011). Por lo tanto, el pastoreo por la tarde podría ser considerado como una estrategia para alcanzar un aumento en la relación CS/PB en pasturas con altos niveles de PB, lo que permitiría mejorar la eficiencia de utilización del nitrógeno (Keim y Anrique, 2011).

Estudios que reportan los efectos de cambio de horario de pastoreo sobre la producción y composición de la leche son presentados en la tabla 2 (extraída de Pozo, 2018). En estas publicaciones, el manejo de la hora de suministro de pasto permitió mejoras de producción de leche que fueron de 0,8 a 2,6 kg/día. Los autores argumentan que la mejora de la productividad observada estaría ligada principalmente a un aumento en el consumo de materia seca (**CMS**) (Brito et al., 2009) y de la



digestibilidad de la pastura (Trevaskis, Fulkerson y Nandra, 2004), y en consecuencia a un aumento de la disponibilidad y el uso de la energía. En relación a esto último, Brito y col. (2009) estiman que el aumento del consumo y de la digestibilidad de una alfalfa cortada por la tarde permitió un aporte extra de 3,1 Mcal de energía metabolizable (**EM**) para vacas lecheras. Estos resultados son consistentes con los encontrados en estudios donde se probaron cultivares de raigrás con diferentes niveles de CS en la alimentación de vacas lecheras y encontraron que las pasturas con mayores niveles de CS, permitieron aumentar el consumo y la producción de leche (Miller et al., 2001; Moorby, Evans, Scollan, McRae y Theodorou, 2006; Taweel et al., 2006).

En otros estudios, a pesar que el suministro de pastoreo en la tarde no mejoró el consumo ni la producción de leche, se observaron mejoras en el contenido de sólidos de la leche (g/día), especialmente en grasa (Abrahamse, Tamminga y Dijkstra, 2009; Vibart y col., 2017; Orr et al., 2001). Esto coincide con los resultados de Brito et al., (2009), que reportaron un aumento en el rendimiento de grasa y lactosa (g/día) en vacas alimentadas con una alfalfa cortada por la tarde.

**Tabla 2.** Efecto del momento de acceso al pastoreo sobre la producción y composición de la leche.

Referencia	Dieta	Efectos del Pastoreo de tarde
Orr et al., 2001	<i>Lolium perenne</i> <i>Trifolium repens</i>	+ Tiende a ↑ la producción de leche
Trevaskis et al., 2004	<i>Lolium multiflorum</i> concentrado	+ ↑ producción de leche y proteína
Abrahamse et al., 2009	<i>Lolium perenne</i> concentrado	+ ↑ producción de LCG y proteína; ↑ producción de grasa de la leche
Hernandez-Ortega et al., 2014	Raigrás + RTM concentrado	y ↑ consumo de pasto; ↑ concentración de AG poli-insaturados, ruménico y linoleico en leche
Pulido et al., 2015	<i>Lolium perenne</i> concentrado	+ Tiende a ↑ la producción de leche; ↓ urea en sangre
Vibart et al., 2017	<i>Lolium perenne</i>	↑ grasa de la leche; tiende a ↑ producción de proteína y sólidos de la leche; ↓ concentración de AG poli-insaturados en la leche
Chen et al., 2017	<i>Lolium perenne</i>	Tendencia a ↑ sólidos en la leche

Fuente: Pozo, C. 2018

## 5. HIPOTESIS

La inclusión de extracto de taninos de *Acacia mearnsii* en la RTM o el pastoreo de raigrás (*Lolium multiflorum*) en la tarde, permitirán mejorar el desempeño productivo y la composición de la leche de vacas holando alimentadas con una dieta que combina pastura con RTM.

## 6. OBJETIVOS

Evaluar el efecto de la inclusión de extracto de taninos de *Acacia mearnsii* en una RTM o del horario de pastoreo sobre el consumo, el desempeño productivo y la composición de la leche en vacas holando alimentadas con una dieta que combina pastura con RTM.

### Objetivos específicos

Evaluar el efecto de la inclusión de extracto de taninos de *Acacia mearnsii* en una RTM o del horario de pastoreo sobre:

- Consumo de nutrientes.
- Producción de leche.
- Eficiencia alimentaria.
- Composición de leche.

## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en el IPAV (Instituto de Producción Animal de la Facultad de Veterinaria), Universidad de la República (Ruta 1 Km. 42, Libertad, San José), entre los meses de setiembre y noviembre del año 2015. El protocolo experimental fue previamente aprobado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (C.H.E.A.) de la Universidad de la República (número de protocolo: CEUAFVET-473).

Se seleccionaron para el experimento nueve vacas multíparas raza Holando con un promedio de  $546 \pm 34$  kg de peso vivo,  $197 \pm 12$  días de lactación y con una producción de leche de  $24 \pm 3,4$  kg/día.

Los animales fueron bloqueados en función de los días en lactación, peso vivo y producción de leche. Los animales de cada bloque se asignaron al azar a uno de tres cuadrados latinos de  $3 \times 3$ .

En cada cuadrado latino cada animal pasó por tres tratamientos en orden aleatorio:

- 1- AM: pastoreo por la mañana + RTM por la tarde
- 2- AMt: pastoreo por la mañana + RTM con 15 g TA/Kg de MS por la tarde.
- 3- PM: RTM por la mañana + pastoreo por la tarde.

Los animales de cada cuadrado latino recibieron sucesivamente los 3 tratamientos experimentales en 3 períodos de 22 días cada uno. Cada período constó de 14 días de adaptación a la dieta y 8 días de mediciones.

Las vacas fueron ordeñadas dos veces al día (6:30 hs. y 15:30 hs.) y luego de cada ordeño accedieron a comederos individuales con RTM o a parcelas individuales con raigrás (*Lolium multiflorum*). Después de 5 hs. de alimentación (RTM o pastoreo) las vacas se mantuvieron juntas en un área con agua disponible, pero sin alimento, hasta el próximo ordeño. La RTM fue ofrecida al 60% del consumo potencial de cada vaca, predicho antes del inicio del experimento mediante el modelo propuesto por el NRC (2001). El pasto fue ofrecido en parcelas individuales a razón de 13 kg de MS/vaca, calculada a partir de corte a una altura de 5 cm. La RTM utilizada se formuló de acuerdo a las recomendaciones del NRC (2001) para cubrir los requerimientos de una vaca de 550 kg de peso, con 190 días de lactancia y una producción de 28 kg de leche/día. La composición química de la RTM y el raigrás es presentada en la Tabla 3.

## 7.1 Consumo

El consumo individual de RTM se calculó por la diferencia entre la cantidad de alimento ofrecido y rechazado.

El consumo de pasto se estimó en parcelas individuales durante los primeros 5 días de mediciones y utilizando un disco medidor de forraje. Para la calibración del disco, se midieron los valores de disco de la parcela de pastoreo y se seleccionaron 6 puntos donde los valores del disco fueron: alto, medio y bajo. Una vez identificados estos puntos se procedió al corte y pesaje de un área de 0,1 m<sup>2</sup> correspondiente a cada punto. El pasto cortado de cada punto fue secado durante 24 hs. a 105 °C. Las ecuaciones para determinar la masa de pastoreo se obtuvieron por la regresión entre los valores del disco y los pesos de la masa de forraje. Este procedimiento se realizó antes de la entrada de los animales en las parcelas a modo de obtener ecuaciones de la oferta de pasto. Los coeficientes de entrada a cada parcela se obtuvieron como media de 32 mediciones, estos valores se utilizaron en las ecuaciones para estimar la masa de forraje de la parcela antes de la entrada de los animales. Después de la salida de los animales, fue cortada a 5 cm un área correspondiente a 10-15% de cada parcela para determinar el remanente de pasto. El pasto cortado fue pesado y secado durante 24 hs. a 105 °C. El consumo aparente de cada animal se estimó por la diferencia entre el pasto ofrecido y el pasto remanente. A partir del análisis de composición química de los alimentos, se determinó el consumo de cada fracción de los alimentos (MS, MO, CS, FND y PB).

## 7.2. Producción y composición de la leche

La producción de leche se registró con lactómetros manuales (Tru-test by Tru-test Limited, New Zeland) durante los 5 primeros días de cada periodo de mediciones. Se colectaron muestras individuales de leche en los 4 ordeñes consecutivos en los días 2 y 3 de cada período de mediciones, utilizándose bronopol como conservante, para posteriormente determinar el contenido de grasa, proteína, caseína, lactosa por análisis de infra-rojo (model 2000, Bentley Instruments Inc., Chaska, MN IDF, 2000). La producción de leche corregida por grasa (LCG 3,5%) se calculó de la forma descrita por Tyrrell y Reid (1965).

## 7.3 Composición química de los alimentos

Las muestras de los alimentos fueron colectadas durante el periodo de mediciones. Las muestras de RTM fueron almacenadas directamente a -20 °C y luego secadas en estufa a 60 °C durante 48 hs. Las muestras de pasto fueron colectadas al inicio de cada sesión de pastoreo. Dichas muestras fueron inmediatamente conservadas en N líquido y posteriormente liofilizadas (Benchtop Pro, Vir-Tis). Todas las muestras de alimentos fueron molidas (1mm) para su posterior análisis. El contenido de materia seca total de las muestras se determinó por secado en estufa a 105 °C durante 24 hs. El contenido de cenizas se determinó por combustión a 600 °C durante 4 hs. y la materia orgánica (MO) como 100 - % de cenizas. El contenido de PB ( $N \times 6,25$ ) se determinó de acuerdo con AOAC (1997).

El contenido de FDN y FDA se analizaron de acuerdo con el método descrito por (Senger et al., 2008) las muestras en bolsas de poliéster se trataron con un detergente neutro o ácido en un autoclave a 110 °C durante 40 minutos. Para el análisis de lignina, las bolsas que contenían el residuo de FDA fueron tratadas con  $H_2SO_4$  (12M) por 3 horas (AOAC 1997). El extracto etéreo (EE) fue obtenido por extracción con alcohol etílico a 90 °C por 1 hora (Extractor ANKOM, modelo XT15, USA).

El contenido de CS fue extraído siguiendo la técnica descrita por Hall (2000) y analizado según Dubois, Gilles, Hamilton, Rebers y Smith, (1956). Los carbohidratos no fibrosos (CNF) fueron calculados según lo sugerido por el NRC (2001).

## 7.4. Análisis estadísticos

Los datos fueron analizados utilizando el procedimiento PROC MIXED de SAS (2009), incluyendo al tratamiento como efecto fijo, y al cuadrado, al periodo y la vaca anidada al cuadrado como efectos aleatorios. Las diferencias entre los tratamientos se declararon con significancias de  $P \leq 0,05$  y las tendencias con  $0,05 < P \leq 0,10$  utilizando el test de Student.

**Tabla 3.** Composición química<sup>1</sup> de la ración totalmente mezclada (RTM) y la pastura pastoreada en la mañana (A.M.) o en la tarde (P.M.).

	RTM <sup>2</sup>	Pastura	
		A.M.	P.M.
MS <sup>3</sup> , %	41,0	18,6 (2,1)	19,6 (2,5)
Composición de la MS, %			
MO <sup>4</sup>	94,0	87,9 (1,1)	88,7 (1,2)
CS <sup>5</sup>	3,7	6,9 (1,2)	8,9 (1,4)
FDN <sup>6</sup>	27,1	45,9 (5,2)	43,4 (7,9)
FDA <sup>7</sup>	16,6	27,1 (2,7)	26,3 (3,8)
LAD <sup>8</sup>	1,3	3,7 (1,1)	3,6 (1,6)
CNF <sup>9</sup>	46,7	28,7 (5,3)	33,0 (7,7)
EE <sup>10</sup>	3,75	2,1 (0,04)	1,8 (0,16)
PB <sup>11</sup>	16,5	13,3 (1,4)	12,3 (1,0)
CS/PB <sup>12</sup>	0,22	0,53 (0,15)	0,73 (0,15)

<sup>1</sup>Promedio de los tres periodos (desvío estándar entre paréntesis); <sup>2</sup>RTM compuesta por (% MS), silo de maíz (60 %), harina de soja (19,5 %), ensilado de grano húmedo de maíz (18,5 %), urea (0,7 %), vitaminas y minerales (1,3 %); <sup>3</sup>Materia seca; <sup>4</sup>Materia orgánica; <sup>5</sup>Carbohidratos Solubles; <sup>6</sup>Fibra neutro detergente; <sup>7</sup>Fibra ácido detergente; <sup>8</sup>Lignina detergente ácido; <sup>9</sup>Carbohidratos no fibrosos, calculado como: %CNF = %MO – (%PB + %FND + %EE); <sup>10</sup>Extracto etéreo; <sup>11</sup>Proteína bruta; <sup>12</sup>Relación carbohidratos solubles/proteína bruta.

## 8. RESULTADOS

El CMS total no se vio afectado por los tratamientos, sin embargo, el tratamiento PM tendió a aumentar un 6% el consumo de pasto ( $P = 0,06$ ), mientras que disminuyó en un 2% el consumo de RTM ( $P < 0,05$ ). En consecuencia, el porcentaje de pastura en la dieta fue mayor en PM que en AM y AMt (44,1 vs. 41,2;  $P < 0,05$ ). El consumo de MO, FND o PB fue similar entre los tratamientos, sin embargo, el consumo de CS fue mayor en el tratamiento PM ( $P < 0,01$ ). Como consecuencia, el tratamiento PM aumento la relación CS/PB de la dieta ( $P < 0,05$ ).

**Tabla 4.** Efecto de la inclusión de taninos en la dieta o del manejo del pastoreo sobre el consumo de pastura, ración totalmente mezclada (RTM) y nutrientes.

	Tratamiento <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	<i>P</i> -valor <sup>3</sup>
	AM	AMt	PM		
Consumo de MS <sup>4</sup> , kg/d					
Pastura	8,1 <sup>y</sup>	8,1 <sup>y</sup>	8,6 <sup>x</sup>	0,50	0,06
RTM	11,1 <sup>a</sup>	11,1 <sup>a</sup>	10,9 <sup>b</sup>	0,47	0,03
Total	19,3	19,2	19,6	0,74	0,33
Pastura en la dieta, %	42,1 <sup>b</sup>	42,3 <sup>b</sup>	44,1 <sup>a</sup>	1,66	0,01
Consumo de nutrientes, Kg/d					
MO <sup>5</sup>	17,6	17,6	17,9	0,65	0,21
FND <sup>6</sup>	6,7	6,7	6,7	0,34	0,87
CS <sup>7</sup>	0,97 <sup>b</sup>	0,97 <sup>b</sup>	1,18 <sup>a</sup>	0,07	<0,01
PB <sup>8</sup>	2,92	2,92	2,87	0,14	0,17

<sup>1</sup>AM = pastoreo por la mañana y RTM por la tarde; AMt = pastoreo por la mañana y RTM por la tarde suplementado con 15 g TA/kg de MS; PM = RTM por la mañana y pastoreo por la tarde. <sup>2</sup>Error estándar de la media. <sup>3</sup> Nivel de significancia para el efecto de los tratamientos; diferentes letras en superíndice dentro de la misma línea indican diferencias significativas (<sup>a-c</sup>;  $P \leq 0,05$ ). <sup>4</sup>Materia seca. <sup>5</sup>Materia orgánica. <sup>6</sup>Fibra neutro detergente. <sup>7</sup>Carbohidratos solubles. <sup>8</sup>Proteína bruta.



Los resultados de producción y composición de leche son presentados en la tabla 5. Los tratamientos no afectaron la producción, la composición, ni la eficiencia alimentaria para la producción de leche (Tabla 5). En el caso del tratamiento PM presentó un mayor contenido de proteína en la leche ( $P < 0,05$ ) y tendió a presentar un mayor porcentaje de caseína y sólidos totales en comparación con el tratamiento AMt ( $P = 0,10$ ).

**Tabla 5.** Efecto de la inclusión de taninos en la dieta o del manejo del pastoreo sobre la producción y composición de la leche.

	Tratamiento <sup>1</sup>			EEM <sup>2</sup>	<i>P</i> -valor <sup>3</sup>
	AM	AMt	PM		
Leche, kg/día	21,7	21,6	21,4	2,12	0,86
LCG <sup>4</sup> 3,5% kg/día	23,6	23,8	24,2	1,89	0,63
Grasa, kg/día	0,88	0,89	0,92	0,062	0,40
Grasa, %	4,11	4,13	4,35	0,196	0,21
Proteína, kg/día	0,76	0,74	0,75	0,062	0,55
Proteína, %	3,51 <sup>ab</sup>	3,43 <sup>b</sup>	3,54 <sup>a</sup>	0,095	0,03
Total caseína, kg/día	0,57	0,55	0,56	0,044	0,41
Total caseína, %	2,65 <sup>xy</sup>	2,56 <sup>y</sup>	2,66 <sup>x</sup>	0,095	0,07
Rel. Caseína: proteína	0,75	0,75	0,75	0,008	0,54
Lactosa, kg/día	1,02	1,02	1,02	0,107	0,99
Lactosa, %	4,70	4,72	4,75	0,089	0,41
Nitrógeno Ureico en leche (mg/dL)	20,9	18,9	22,6	2,25	0,29
Sólidos totales, kg/día	2,65	2,65	2,69	0,226	0,72
Sólidos totales, %	12,3 <sup>y</sup>	12,3 <sup>y</sup>	12,6 <sup>x</sup>	0,279	0,09
Eficiencia de alimentación <sup>5</sup>	1,23	1,23	1,24	0,071	0,98

<sup>1</sup>AM = pastoreo por la mañana y RTM por la tarde; AMt = pastoreo por la mañana y RTM por la tarde suplementado con 15 g TA/kg de materia seca (MS); PM = RTM por la mañana y pastoreo por la tarde. <sup>2</sup>Error estándar de la media. <sup>3</sup>Nivel de significancia para el efecto de los tratamientos; diferentes letras en superíndice dentro de la misma línea indican diferencias significativas (a-c;  $P \leq 0,05$ ) o tendencia (x-z;  $P \leq 0,10$ ). <sup>4</sup>Leche corregida por grasa,  $LCG\ 3,5\% = 0,4324 \times \text{leche (kg)} + 16,218 \times \text{Grasa (kg)}$ , de acuerdo con Tyrrel y Reid (1965). <sup>5</sup>Eficiencia de alimentación,  $LCG\ 3,5\% \text{ (kg/d) / Consumo de MS (kg/d)}$ .

## 9. DISCUSIÓN

Los taninos pueden reducir el consumo debido a su propiedad astringente, que afecta la palatabilidad del alimento (Patra y Saxena, 2011). Sin embargo, en el presente estudio, la inclusión de TA en la RTM no afectó el consumo de MS. Este resultado fue esperado, ya que el nivel de inclusión de TA en la dieta fue de 0,87 %, un nivel por debajo de aquellos usados en estudios con vacas lecheras donde se reportaron efectos negativos de este aditivo sobre el consumo (Grainger et al., 2009; Griffiths et al., 2013).

Una de las principales hipótesis de este trabajo fue que la inclusión de taninos en la dieta aumentaría el aporte de proteína metabolizable y por lo tanto podría aumentar el desempeño productivo de las vacas lecheras. Sin embargo, en el presente estudio, la suplementación con TA no afectó la producción de leche ni la producción total de sus componentes. Estos resultados están de acuerdo con varios estudios donde adicionaron de 0,3 a 0,9 % de TA en la dieta de vacas lecheras alimentadas con una dieta a base de pasturas templadas (Alves, Maciel Dias, Hans Dallastra, Lima y Ribeiro-Filho, 2017a; Griffiths et al., 2013; Orlandi, 2016) o tropicales (Alves et al., 2017b; Orlandi, Pozo, Schiavo, Oliveira y Kozloski, 2020), que reportaron resultados similares en donde no hubieron cambios en la producción y composición de la leche. Por otro lado, la inclusión de TA en la dieta redujo las concentraciones de proteína y caseína en la leche. Estudios previos con vacas lecheras alimentadas con RTM y suplementadas con 16 y 30 g de TA/kg de MS reportaron resultados similares (Aprianita et al., 2014; Gerlach et al., 2018). Aunque los mecanismos que explicarían la reducción de la proteína en leche observadas en dietas con taninos no están dilucidados, es probable que en estos casos ocurra una reducción de la absorción de aminoácidos y por lo tanto del aporte de aminoácidos para la síntesis de proteína de la leche (Frutos et al., 2004). Sin embargo, aunque las concentraciones de proteína y en particular la caseína en leche fueron afectadas negativamente, la producción total de estos componentes de la leche no se vio reducidas por la inclusión de TA.

A lo largo del día los rumiantes en pastoreo presentan diferentes patrones de consumo. Por lo general, es observado un aumento de la actividad de pastoreo por la tarde, que podría estar ligado a un aumento en la calidad de la pastura en ese

momento del día (Gregorini, 2012). En nuestro experimento, el cambio del momento de pastoreo de la mañana para la tarde tendió a aumentar el consumo de pasto y aumentó el consumo de CS. Este resultado fue similar al reportado por Hernández-Ortega et al. (2014), los cuales observaron un mayor consumo de pasto en vacas lecheras alimentadas con RTM y pastoreando raigrás asignado después del ordeño de la tarde.

En experimentos con animales consumiendo una dieta a base de pasturas con o sin suplementación, los eventos más prolongados de pastoreo son reportados por la tarde (Abrahamse et al., 2009; Ueda, Mitani y Kondo, 2016), y estos eventos se asocian con una mayor tasa de consumo en este momento del día (Orr et al., 2001; Vibart et al., 2017).

El cambio del momento de pastoreo de la mañana para la tarde no afectó la producción de leche ni la composición de la leche. Estos resultados están de acuerdo con aquellos presentados por Hernández-Ortega et al. (2014), donde vacas lecheras alimentadas con una dieta mixta compuesta por RTM y pastoreo en diferentes momentos del día presentaron un desempeño productivo similar. En experimentos con vacas en pastoreo, el aumento de la producción de leche y de sólidos en leche observados cuando las pasturas se asignan por la tarde, están relacionadas en primer lugar a un mayor consumo de MS o a un aumento en la digestibilidad de las pasturas (Abrahamse et al, 2009; Orr et al., 2001). En el presente experimento, el consumo de carbohidratos fue mayor en el tratamiento PM, aunque esto no afectó en la producción de leche. Esto puede sugerir que la disponibilidad de nutrientes para la producción de leche no se vio afectada. Además, el porcentaje de pastura en la dieta fue del 43%, por lo tanto, los efectos del aumento de la relación CS/PB de la pastura fueron probablemente diluidos por la inclusión de RTM.

## **10. CONCLUSIÓN**

La adición de 8,7 g de TA/kg MS en la dieta no afecta el consumo ni el desempeño productivo de las vacas lecheras consumiendo una dieta que combina RTM con pastura. Por otro lado, el cambio del momento de pastoreo de la mañana por la tarde demostró ser una estrategia para aumentar el consumo de pasto.

## BIBLIOGRAFIA

- Abrahamse, P.A., Tamminga, S., y Dijkstra, J. (2009). Effect of daily movement of dairy cattle to fresh grass in morning or afternoon on intake, grazing behaviour, rumen fermentation and milk production. *Journal of Agricultural Science*, 147, 721-730.
- Aguerre, M.J., Capozzolo, M.C., Lencioni, P., Cabral, C., y Wattiaux, M.A. (2016). Effect of quebracho-chestnut tannin extracts at 2 dietary crude protein levels on performance, rumen fermentation, and nitrogen partitioning in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99, 4476-4486.
- Alves, T.P., Dall-Orsoletta, A.C., y Ribeiro-Filho, H. (2017a). The effects of supplementing *Acacia mearnsii* tannin extract on dairy cow dry matter intake, milk production, and methane emission in a tropical pasture. *Tropical Animal Health and Production*, 49, 663-1668.
- Alves T.P., Maciel Dias, K., Hans Dallastra, L.J., Lima, B., y Ribeiro-Filho, H. (2017b). Energy and tannin extract supplementation for dairy cows on annual winter pastures. *Semina: Ciências Agrárias*, 38, 1017-1026.
- AOAC International. (1997). *Official Methods of Analysis* (16<sup>a</sup> ed., pp. 28-29) Arlington: AOAC International.
- Aprianita, A., Donkor, O., Moate, P.J., y Williams, S.R. (2014). Effects of dietary cottonseed oil and tannin supplements on protein and fatty acid composition of bovine milk. *Journal of Dairy Research*, 81, 183–192.
- Bach, A., Calsamiglia, S., y Stern, M.D. (2005). Nitrogen Metabolism in the Rumen. *Journal of Dairy Science*, 88, E9-E21.
- Bargo, F., Muller, L.D., Delahoy, J.E., y Cassidy, T.W. (2002a). Performance of High Producing Dairy Cows with Three Different Feeding Systems Combining Pasture and Total Mixed Rations. *Journal of Dairy Science*, 85, 2948– 2963.

- Bargo, F., Muller, L.D., Delahoy, J.E., y Cassidy, T.W. (2002b). Milk Response to Concentrate Supplementation of High Producing Dairy Cows Grazing at Two Pasture Allowances. *Journal of Dairy Science*, 85,1777-1792.
- Bendall, J.G. (2001). Aroma compounds of fresh milk from New Zealand cows fed different diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 4825-4832.
- Berchielli, T.T., Vaz Pires, A., y Oliveira de, S.G. (2011). *Nutrição de ruminantes* (2ª ed.). Jaboticabal: Funep.
- Bristow, A.W., Whitehead, D.C., y Cockburn, J.E. (1992). Nitrogenous constituents in the urine of cattle, sheep and goats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 59, 387–394.
- Brito, A.F., Tremblay, G.F., Lapierre, H., Bertrand, A., Castonguay, Y., Bélanger, G., Berthiaume, R. (2009). Alfalfa cut at sundown and harvested as baleage increases bacterial protein synthesis in late-lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92,1092-1107.
- Butler, W.R. (1998). Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 81,2533-2539.
- Cajarville, C., Britos, A., Errandonea, N., Gutiérrez, L., y Cozzolino, D., y Repetto, J.L. (2015). Diurnal changes in water-soluble carbohydrate concentration in lucerne and tall fescue in autumn and the effects on in vitro fermentation. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 58, 281-291.
- Cajarville, C., Mendoza, A., Santana, A., y Repetto, J.L. (2012). En tiempos de intensificación productiva... ¿cuánto avanzamos en el conocimiento de los nuevos sistemas de alimentación de la vaca lechera? En Asociación Uruguaya de Producción Animal. *Congreso AUPA* (Vol. IV, pp. 35-39). Montevideo: SMVU.
- Carulla, J. y Pabón, M. (2004). Un sistema in vitro para evaluar los efectos de los taninos en la degradación de la proteína bajo condiciones ruminales y abomasales. En H.D. Hess y J. Gómez (Eds.), *Memorias del Taller: Taninos en la Nutrición de Rumiantes en Colombia* (pp. 15-19). Bogotá: CIAT.

- Carulla, J.E., Kreuzer, M., Machmüller, A., y Hess, H.D. (2005). Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*, 56, 961–970.
- Chen, A., Bryant, R.H., Edwards, G.R. (2017). Milk production and composition of dairy cows grazing two perennial ryegrass cultivars allocated in the morning and afternoon. *Animal Production Science*, 57, 1507-1511.
- Dall-Orsoletta, A., Almeida, J., Carvalho, P., Savian, J., y Ribeiro-Filho, H. (2016). Ryegrass pasture combined with partial total mixed ration reduces enteric methane emissions and maintains the performance of dairy cows during mid to late lactation. *Journal of Dairy Science*, 99,1-10.
- Dias, K.M. (2016). *Efeito da suplementação dietética com extrato tanífero de Acacia mearnsii na produção, composição química e perfil de ácidos graxos do leite de ovelhas e vacas em pastejo*. (Tesis de doctorado). Universidade do Estado de Santa Catarina, Santa Catarina.
- Dijkstra, J., Reynolds, C.K., Kebreab, E., Bannink, A., Ellis, J.L., France, J., y van Vuuren, A.M. (2013). Challenges in ruminant nutrition: Towards minimal nitrogen losses in cattle. En J.W. Oltjen, E. Kebreab y H. Lapierre(Eds), *Energy and Protein Metabolism and Nutrition in Sustainable Animal Production* (pp. 47-58). Wageningen: Wageningen Academic Publishers.
- Dschaak, C. M., Williams, C.M, Holt, M.S., Eun, J.S., Young, A.J., y Min, B.R. (2011). Effects of supplementing condensed tannin extract on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94, 2508–2519.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., y Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry*, 28,350–356.
- Frutos, P., Hervás, G., Giráldez, F.J., y Mantecón, A.R. (2004). Review. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2 (2), 191-202.
- Gehman, M.A. (2006). The effect of carbohydrate source on nitrogen capture in dairy cows on pasture. *Journal of Dairy Science*, 89, 2659 -2667.

- Gerlach, K., Pries, M., Tholen, E., y Schmithausen, A.J. (2018). Effect of condensed tannins in rations of lactating dairy cows on production variables and nitrogen use efficiency. *Animal*, 12(9), 1847-1855
- Grainger, C., Clarke, T., Auld, M. J., Beauchemin, K.A., McGinn, S.M., Waghorn, G.C., y Eckard, R.J. (2009). Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 89, 241-251.
- Gregorini, P. (2012). Diurnal grazing pattern: its physiological basis and strategic management. *Animal Production Science*, 52,416-430
- Griffiths, W.M., Clark, C.E., Clark, D.A., y Waghorn, G.C. (2013). Supplementing lactating dairy cows fed high-quality pasture with black wattle (*Acacia mearnsii*) tannin. *Animal*, 7(11), 1789-1795.
- Griggs, T.C., Macadam, J.W., Mayland, H.F., y Burns, J.C. (2005). Nonstructural carbohydrate and digestibility patterns in orchardgrass swards during daily defoliation sequences initiated in evening and morning. *Crop Science*, 45, 1295-1304
- Hagerman, A.E., y Butler, L.G. (1991). Tannins and Lignins. En G.A. Rosenthal y M.R. Berenbaum (Eds.), *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites* (2ª ed., Vol.1, pp.355-388). New York: National Academy Press.
- Hall, M.B. (2000). *Neutral detergent-soluble carbohydrates: Nutritional relevance and analysis*. Gainesville: University of Florida.
- Hall, M. B., y Huntington, G.B. (2008). Nutrient synchrony: Sound in theory, elusive in practice. *Journal of Animal Science*, 86, 287-292.
- Henke, A., Dickhoefer, U., Westreicher-Kristen, E., Knappstein, K., Molkentin, J., Hasler, M., y Susenbeth, A.(2017). Effect of dietary Quebracho tannin extract on feed intake, digestibility, excretion of urinary purine derivatives and milk production in dairy cows. *Archives of Animal Nutrition*, 71, 37-53.



- Hernández-Ortega M., Martínez-Fernández, A., Soldado, A., González, A., Arriaga-Jordán, C. M., Argamentería, A., Vicente, F. (2014). Effect of total mixed ration composition and daily grazing pattern on milk production, composition and fatty acids profile of dairy cows. *Journal of Dairy Research*, 81, 471-478.
- Hoekstra, N.J., Schulte, R.P., Struik, P.C., y Lantinga, E.A. (2007). Pathways to improving the N efficiency of grazing bovines. *European Journal of Agronomy*, 26, 363-374.
- Keim, J.P., y Anrique, R. (2011). Nutritional strategies to improve nitrogen use efficiency by grazing dairy cows. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 71 (4), 623-633.
- Kolver, E.S. (2003). Nutritional limitations to increased production on pasture-based systems. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62, 291-300.
- Kolver, E.S., y Muller, L.D. (1998). Performance and Nutrient Intake of High Producing Holstein Cows Consuming Pasture or a Total Mixed Ration. *Journal of Dairy Science*, 81,1403-1411.
- Kozloski, G.V. (2011). Bioquímica dos Rumiantes, (3a ed.). Santa Maria, Rio Grande do Sul:UFSM.
- Lazzarini, M.B. (2010). Milk production and nitrogen partitioning in dairy cows grazing standard and high sugar perennial ryegrass with and without white clover, during spring and autumn. (Tesis de maestria), Massey University, Palmerston North.
- Martin, B., Coulon, J.B., Chamba, J.F., y Bugaud, C. (1997). Effect of milk urea content on characteristics of matured Reblochon cheeses. *Le Lait*, 77, 505-514.
- Mayland, H.F., Macadam, J.W., Shewmaker, G.E., y Chatterton, N.J. (2003). The diurnal cycling of sugars in grasses impact strip-graze management plans. *Proceedings of the National Conference Grazing Lands*, 2, 466-468.
- McCormick, M.E., Redfearn, D.D., Ward, J.D., y Blouin, D.C. (2001). Effect of protein source and soluble carbohydrate addition on rumen fermentation and lactation performance of holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 84, 896-901.

- Mendoza, A., Cajarville, C., y Repetto, J.L. (2016a). Digestive response of dairy cows fed diets combining fresh forage with a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*, 99, 8879-8789.
- Mendoza, A., Cajarville, C., y Repetto, J.L. (2016b). Short communication: Intake, milk production, and milk fatty acid profile of dairy cows fed diets combining fresh forage with a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*, 99, 1-7.
- Miller, L.A., Moorby, J.M., Davies, D.R., Humphreys, N.D., Scollan, N.D., MacRae, J.C., y Theodorou, M. K. (2001). Increased concentration of water soluble carbohydrate in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.): Milk production from late-lactation dairy cows. *Grass Forage Science*, 56, 383-394.
- Moorby, J.M., Evans, R.T., Scollan, N.D., MacRae, J.C., y Theodorou, M.K. (2006). Increased concentration of water-soluble carbohydrate in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) Evaluation in dairy cows in early lactation. *Grass Forage Science*, 61, 52-59.
- Mueller-Harvey, I. (2006). Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 2010-2037.
- Orlandi, T. (2016). Impacto nutricional da inclusão de extrato tanífero de acácia negra (*Acacia mearnsii*) na dieta de ovinos e vacas em lactação. (Tesis de doctorado). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- Orlandi, T., Kozloski, G.V., Alves, T.P., Mesquita, F.R., y Ávila, S.C. (2015). Digestibility, ruminal fermentation and duodenal flux of amino acids in steers fed grass forage plus concentrate containing increasing levels of *Acacia mearnsii* tannin extract. *Animal Feed Science and Technology*, 210, 37-45.
- Orlandi, T., Pozo, C.A., Schiavo, J., Oliveira, L., y Kozloski, G. V. (2020). Impacto of a tannin extract on animal performance and nitrogen excretion of dairy cows grazing a tropical pasture. *Animal Production Science*, 60, 1183-1188.
- Orr, R.J., Rutter, S.M., Penning, P.D., y Rook, A.J. (2001). Matching grass supply to grazing patterns for dairy cows. *Grass Forage Science*, 56, 352-361.

- Pacheco, D., y Waghor, G.C. (2008). Dietary nitrogen - definitions, digestion, excretion and consequences of excess for grazing ruminants. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 70, 107-116.
- Pastorini, M., Pomiés, N., Repetto, J. L., Mendoza, A., y Cajarville, C. (2019). Productive performance and digestive response of dairy cows fed different diets combining a total mixed ration and fresh forage. *Journal of Dairy Science*, 102, 1-13.
- Patra, A.K., y Saxena, J. (2011). Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 24-37.
- Pozo, C.A. (2018). Avaliação da inclusão de taninos na dieta ou do turno de pastejo como estratégias para melhorar o uso do nitrogênio alimentar em vacas leiteiras. (Tesis de doctorado). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- Pulido, R.G., Ruiz-Albarrán, M., Balocchi, O., Nanning, P., Wittwer, F. (2015). Effect of timing of pasture allocation on production, behavior, rumen function, and metabolism of early lactating dairy cows during autumn. *Livestock Science*, 177, 43-51.
- Reed, K.F., Bonfá, H.C., Dijkstra, J., Casper, D.P., y Kebreab, E. (2017). Estimating the energetic cost of feeding excess dietary nitrogen to dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 9, 7116-7126.
- Repetto, J.L., Cajarville, C., D'Alessandro, J., Curbelo, A., Soto, C., y Garín, D. (2005). Effect of wilting and ensiling on ruminal degradability of temperate grass and legume mixtures. *Animal Research*, 54 (2), 73-80.
- Senger, C.C.D., Kozloski, G.V., Sanchez, L.M.B., Mesquita, F.R., Alves, T.P., y Castagnino, D.S. (2008). Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology*, 146, 169-174.
- Silanikove, N., Perevolotsky, A., y Provenza, F.D. (2001). Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative post-ingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 69-81.

- Taweel, H.Z., Tas, B.M., Smit, H.J., Elgersma, A., Dijkstra, J., y Tamminga, S. (2006). Grazing behaviour, intake, rumen function and milk production of dairy cows offered *Lolium perenne* containing different levels of water-soluble carbohydrates. *Livestock Science*, 102, 33-41.
- Trevaskis, L. M., Fulkerson, W.J., y Nandra, K.S. (2004). Effect of time of feeding carbohydrate supplements and pasture on production of dairy cows. *Livestock Production Science*, 85, 275-285.
- Tyrrel, H.F., y Reid, J.T. (1965). Prediction of the energy value of cow's milk. *Journal of Dairy Science*, 48, 1215-1223.
- Ueda, K., Mitani, T., y Kondo, S. (2016). Herbage intake and ruminal digestion of dairy cows grazed on perennial ryegrass pasture either in the morning or evening. *Animal Science Journal*, 87, 997-1004.
- Vibart, R.E., Tavendale, M., Otter, D., Schwendel, B.H., Lowe, K., Gregorini, P., y Pacheco, D. (2017). Milk production and composition, nitrogen utilization, and grazing behavior of late-lactation dairy cows as affected by time of allocation of a fresh strip of pasture. *Journal of Dairy Science*, 100, 1-14.
- Waghorn, G. (2008). Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production progress and challenges. *Animal Feed Science and Technology*, 147, 116-139
- Waghorn, G.C. (1996). Condensed tannins and nutrient absorption from the small intestine. En Rode, L.M. (Ed.), *Annual meeting, Canadian Society of Animal Science: Animal science research and development meeting future challenges* (pp.175-194). Lethbridge: Lethbridge Research Centre, Agriculture and Agri-Food Canada.
- Wallace, R.J., Onodera, R., y Cotta, M.A. (1997). Metabolism of nitrogen-containing compounds. En P.N. Hobson and C.S. Stewart (Eds.), *The Rumen Microbial Ecosystem* (2<sup>a</sup> ed. pp. 283-284). London: Eds. Chapman & Hall.