

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**CONSUMO DE NUTRIENTES DIGESTIBLES TOTALES Y DIGESTIBILIDAD
APARENTE *IN VIVO* EN VAQUILLONAS SUPLEMENTADAS CON GRANO
DE MAÍZ A DIFERENTES FRECUENCIAS DIARIAS**

por

**AVELLANAL DA CUNHA BARROS, Pablo Martin.
MACHADO FONTOURA, Juan Martin.**

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

2016

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

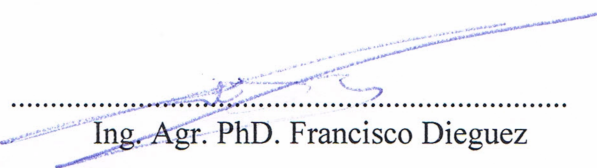
Presidente de Mesa:


.....
DMTV. Maximiliano Pastorini

Segundo Miembro (Tutor):


.....
DCV. MSc. Germán Antúnez

Tercer Miembro:


.....
Ing. Agr. PhD. Francisco Dieguez

Cuarto Miembro (Co-tutor):


.....
DMTV. PhD. José Luis Repetto

Fecha: 14 de setiembre de 2016

Autores:


.....
Br. Pablo Avellanal da Cunha Barros


.....
Br. Juan Martín Machado Fontoura

FACULTAD DE VETERINARIA

Aprobado con 

AGRADECIMIENTOS

A nuestros familiares de ayer, hoy y siempre por el apoyo incondicional a lo largo de este proceso.

A todos nuestros amigos por la paciencia y los buenos momentos compartidos.

A nuestro tutor y compañeros del trabajo experimental por la ayuda y las experiencias vividas.

Al personal de biblioteca y del campo experimental N° 2 de Facultad de Veterinaria, por la colaboración brindada en este trabajo.

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
TABLA DE CONTENIDOS	4
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	5
LISTA DE ABREVIATURAS.....	6
1. RESUMEN	7
2. SUMMARY.....	8
3. INTRODUCCIÓN	9
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	10
4.1. FISIOLÓGIA DIGESTIVA DE LOS RUMIANTES	10
4.2. METABOLISMO RUMINAL DE LOS HIDRATOS DE CARBONO.....	11
4.2.1. Degradación de la celulosa	12
4.2.2. Degradación de la hemicelulosa	12
4.2.3. Degradación de la lignina	13
4.2.4. Degradación del almidón.....	13
4.3. METABOLISMO RUMINAL DE LAS PROTEÍNAS	13
4.3. LAS PASTURAS TEMPLADAS Y SU EFECTO EN EL AMBIENTE RUMINAL.....	15
4.4. LA SUPLEMENTACIÓN COMO ESTRATEGIA DE INTENSIFICACIÓN.....	16
4.5. RESPUESTA A LA SUPLEMENTACIÓN	18
4.6. EFECTO DEL SUMINISTRO DE CONCENTRADO SOBRE LA DIGESTIBILIDAD DE LA FIBRA DE LA DIETA	21
5. HIPÓTESIS	23
6. OBJETIVOS	23
7. MATERIALES Y MÉTODOS	24
7.1. UBICACIÓN	24
7.2. ANIMALES E INSTALACIONES	24
7.3. TRATAMIENTOS.....	24
7.4. ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ALIMENTOS	25
7.5. MEDICIONES Y DETERMINACIONES.....	25
7.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	27
8. RESULTADOS Y DISCUSION.....	28
9. CONCLUSIONES.....	32
10. BIBLIOGRAFÍA	33

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Cuadro I. Composición química de los alimentos.....	25
Cuadro II. Consumo de NDT y fracciones digestibles por vaquillonas de carne sin suplementar o suplementadas con grano de maíz molido a razón del 1 % del peso vivo a diferentes frecuencias diarias.....	28
Cuadro III. Digestibilidad aparente <i>in vivo</i> de la dieta de vaquillonas de carne sin suplementar o suplementadas con grano de maíz molido a razón del 1 % del peso vivo a diferentes frecuencias diarias.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS

AGV	Ácidos grasos volátiles
CRF	Carbohidratos rápidamente fermentescibles
DIGa	Digestibilidad aparente in vivo
FS	Frecuencia de suplementación
FAD	Fibra ácido detergente
FND	Fibra neutro detergente
GMM	Grano de maíz molido
MO	Materia orgánica
MS	Materia seca
NDT	Nutrientes digestibles totales
PB	Proteína bruta
PV	Peso vivo
T0	Tratamiento control alimentado con pastura <i>ad libitum</i>
T1	Tratamiento con pastura <i>ad libitum</i> más suplemento una vez al día
T2	Tratamiento con pastura <i>ad libitum</i> más suplemento dos veces al día
T8	Tratamiento con pastura <i>ad libitum</i> más suplemento ocho veces al día
TS	Tasa de sustitución

1. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación y la frecuencia de suplementación (FS) con grano de maíz molido (GMM), en vaquillonas de carne sobre el consumo de nutrientes digestibles totales (NDT) y la digestibilidad aparente *in vivo* (DIGa) de la dieta. Se utilizaron 20 vaquillonas Hereford (255 ± 22 kg de peso vivo – PV), que fueron bloqueadas por PV y asignadas al azar a cada uno de los tratamientos; se las alimentó con forraje fresco cortado como base de la dieta, compuesto por 98,5% raigrás (*Lolium multiflorum*) y 1,5% trébol blanco (*Trifolium repens*) y no fueron suplementadas (T0) o se suplementaron con GMM a razón del 1% del PV suministrado en partes iguales una vez (T1), dos veces (T2) u ocho veces (T8) al día.

Tras un período de adaptación a la dieta de 10 días, se determinó el consumo total de MS, de pastura y de grano, como la diferencia entre lo ofrecido y lo rechazado en un lapso de 24 horas durante 7 días. A partir del consumo total de MS se determinó MO, PB, FND y FAD para los componentes de la dieta. Diariamente y durante 7 días se colectaron individualmente las heces para determinar la DIGa. En los animales suplementados a base GMM al 1% del PV consumiendo una pastura templada de mediana calidad, el consumo de NDT de la dieta aumentó más de 1 kg/d (4,29 vs. 5,61 kg/d; $p=0,003$), determinando un efecto aditivo sobre el consumo. La DIGa de la MO de la dieta tuvo un efecto cuadrático en las frecuencias de suplementación estudiadas, donde el mayor porcentaje se obtuvo en el T2. Por otra parte no se observaron diferencias en el porcentaje de DIGa de la PB, FND y FAD de la dieta.

Palabras Claves: Suplementación, frecuencia de suplementación, digestibilidad aparente

2. SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the effect of supplementation and supplementation frequency (SF) with ground corn grain (GCG) of beef heifers on total digestible nutrients (TDN) intake and apparent digestibility (DIGa). Twenty Hereford heifers (255 ± 22 kg of body weight – BW) were blocked by BW and randomly assigned to each treatment. Animals were fed with cut ripe fodder made up of 98,5% ryegrass (*Lolium multiflorum*) and 1,5% white clover (*Trifolium repens*) and non-supplemented (T0) or supplemented with GCG at 1% of BW at different frequencies; once (T1), twice (T2) and eight times (T8) per day. After adaptation period to the diet of 10 days, dry matter intake (DMI) was determined as the difference between offered and rejected over 24 hours for 7 days. From the total consumption of MS MO, CP, NDF and ADF were determined for the components of the diet. Daily for 7 days, feces were picked to determine DIGa. In animals supplemented based GMM 1% of PV consuming a temperate pasture medium quality, consumption of diet NDT increased more than 1 kg/d (4.29 vs. 5.61 kg/d; $p=0.003$), determining an additive effect on consumption. DIGa of the MO diet had a quadratic effect on the frequencies of supplementation studied, where the highest percentage obtained in T2. Moreover, no differences were observed in the percentage of DIGa of the CP, NDF and ADF diet.

Key Words: Supplementation; supplementation frequency; digestibility

3. INTRODUCCIÓN

Las tendencias globales en ganadería apuntan a una mayor especialización y eficiencia en la producción de carne, leche y lana, para una sociedad con consumidores más exigentes, costos de producción crecientes y un mercado que compite por recursos como el suelo con otros rubros más rentables (Montossi y Soares de Lima, 2014). En los sistemas ganaderos de base pastoril, como lo son la mayoría en nuestro país, se busca maximizar el aprovechamiento de los recursos forrajeros como las pasturas templadas, para aumentar la eficiencia productiva de los predios con menores áreas de explotación (Chilibroste, 2015).

En general las pasturas templadas presentan un alto valor nutritivo dado por su alto contenido en compuestos nitrogenados (nitrógeno no proteico y proteína verdadera) y azúcares rápidamente fermentescibles, que pueden ser aprovechados por los microorganismos ruminales y generar altas concentraciones de nitrógeno amoniacal ($N-NH_3$) y ácidos grasos volátiles (AGV) (Cajarville y Repetto, 2005; Cajarville y col., 2007). Sin embargo, estas pasturas tienen importantes fluctuaciones anuales e interanuales tanto en la cantidad como en la calidad de la MS producida. En algunas situaciones, la suplementación con concentrados energéticos a rumiantes que consumen pasturas templadas funciona como un aporte de nutrientes (Durán, 1996) para aumentar el consumo voluntario de MS (Bargo y col., 2003) e incrementar el aprovechamiento digestivo de la dieta global (Aguerre y col., 2013).

Por otra parte, el agregado de suplementos energéticos a animales con una dieta a base de pasturas, produce alteraciones en el ambiente ruminal, que pueden modificar la microflora ruminal, a favor de las poblaciones amilolíticas (Cajarville y col., 2006; Aguerre y col., 2013). Estos cambios en la flora en detrimento de las poblaciones fibrolíticas pueden disminuir la digestibilidad de los carbohidratos estructurales de la dieta (Chase y Hibberd, 1987; Tebot y col., 2012) y causar tecnopatías como acidosis, meteorismo, laminitis y desplazamientos de abomaso al ganado bovino suplementado (Krause y Oetzel, 2006).

La ocurrencia de estos efectos está afectada por factores tales como las características de las pasturas, el tipo de suplemento, el nivel de suplementación y el manejo de la alimentación. En este sentido Kaufmann (1976) planteó que era posible aumentar el consumo de concentrado al manejar una mayor frecuencia de alimentación, ya que se logran condiciones más estables de pH ruminal (Chase y Hibberd, 1989; Aronen, 1991; Shabi y col., 1999). Gibson (1981) en una revisión de trabajos sobre el efecto de la frecuencia de suplementación (FS), concluyó que el crecimiento de los animales se vio incrementado debido a un mayor consumo y aprovechamiento digestivo del alimento al suplementar con más frecuencia. Por otra parte hay trabajos en los que no se observaron cambios en el consumo de MS al modificar la frecuencia con que se administraba el concentrado (Dhiman y col., 2002; Robles y col., 2007).

En este trabajo se evaluará el efecto de la frecuencia diaria de suministro de grano de maíz molido (GMM) al 1% del PV a vaquillonas de carne y los efectos sobre el consumo de NDT y DIGa.

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1. Fisiología digestiva de los rumiantes

Los rumiantes se caracterizan por la presencia de preestómagos que les permiten transformar carbohidratos estructurales (celulosa, hemicelulosa y pectina), de las paredes celulares de los forrajes, y proteínas de baja calidad e incluso nitrógeno no proteico (NNP), en nutrientes de alta calidad como la proteína microbiana y los AGV (McDonald, 2006). Estos procesos son posibles por la digestión fermentativa que realizan los microorganismos, que viven en simbiosis en el rumen (Bergman, 1990; Dewhurst y col., 2000).

El tipo de fibra (FND y FAD), presente en la dieta de los rumiantes tiene efectos directos sobre la digestibilidad de la dieta y la capacidad de consumo, lo que determina la cantidad de nutrientes digestibles que el rumiante puede utilizar por cada kg de alimento ingerido (Forbes, 2007). La capacidad de consumo de los rumiantes se relaciona estrechamente con el contenido de FND de la dieta, es así que, según Mertens (1987) los rumiantes pueden consumir el equivalente al 1,2% del PV en FND.

El volumen gástrico en bovinos está estimado en 48 litros o 15 a 21% del PV, variando con la dieta y la tasa de pasaje de los alimentos (Owens y Goetsch, 1988). La capacidad de consumo depende entre otras cosas del tiempo de retención de los alimentos en el rumen. En este sentido Ørskov (1994) reporta que el tiempo de retención medio de los alimentos en el rumen puede ser de entre 48 y 60 horas, dependiendo de las características de las paredes celulares del forraje consumido.

Distintos autores reportan que el crecimiento microbiano y la degradación de los componentes fibrosos de los forrajes, en el rumen, deben producirse bajo condiciones óptimas de temperatura, pH y osmolaridad (Kaufmann y col., 1980; Van Soest, 1994). En este sentido, Church (1974) cita una temperatura entre 39-40 °C para que se den las condiciones normales de fermentación ruminal. Los procesos fermentativos se optimizan a una osmolaridad de 250 a 400 mOsm/L, pero con valores superiores se puede alterar la motilidad de las paredes ruminales y limitar el consumo voluntario de MS (Carter y Grovum, 1990).

A pesar de que los rumiantes poseen un sistema altamente desarrollado para mantener el pH dentro de los límites fisiológicos (5,5 - 7,0; Krause y Oetzel, 2006), el rango óptimo para la digestión de la fibra es más acotado (6,1 - 6,3; Calsamiglia y col., 2008) y en el caso que el pH descienda a niveles sub-óptimos (<5,5), el crecimiento de la flora celulolítica se ve inhibido inmediatamente (Cerrato-Sanchez y col., 2007) y genera una disminución en la tasa de digestión de celulosa/hemicelulosa (Annison y col., 2002). La

composición de la dieta y las fluctuaciones del pH ruminal afectan directamente las bacterias fibrolíticas y la capacidad de estas para digerir la fibra de la dieta (Grant y Mertens, 1992).

La fermentación (principalmente por hidrólisis y oxidación anaeróbica) del alimento ingerido se realiza mediante la acción de la flora microbiana compuesta por bacterias (10^{10} - 10^{11} células/ml), bacteriófagos (10^8 - 10^9 /ml), protozoarios (10^4 - 10^6 /ml) y hongos anaeróbicos (10^3 - 10^5 zoospora/ml; Kamra, 2005). Existen más de 200 especies de bacterias y 30 de protozoos, siendo las principales bacterias monococos y bacilos (*F. succinogenes*, *Ruminococcus albus* y *R. flavefaciens*), y los principales protozoos los ciliados (*Eudiplodinium* y *Polyplastron*) (Hungate, 1966).

4.2. Metabolismo ruminal de los hidratos de carbono

Para explicar cómo los rumiantes hacen uso de los carbohidratos de su dieta es necesario decir de qué forma se encuentran los mismos en los alimentos, ya que esta afecta directamente su fermentación. Más del 60% de la energía que el animal utiliza para mantenimiento y producción se genera en forma de AGV (Bergman, 1990; France y Dijkstra, 2005). La célula vegetal posee en su pared: celulosa, hemicelulosa, lignina y en menor proporción pectina, cutina y proteínas; mientras que en el contenido celular se encuentran azúcares solubles (mono y di-sacáridos) que son de fácil digestión por los microorganismos del rumen (Jung y Allen, 1995).

El almidón es considerado la reserva de los granos y provee energía rápidamente fermentable a los microorganismos. Una diferencia importante entre los carbohidratos de almacenamiento y los estructurales, es que a pesar de que ambos son polímeros formados por glucosa, en el almidón las moléculas de glucosa se unen por enlaces α 1-4, mientras en la celulosa y la hemicelulosa se une por enlaces β 1-4 (Brett y Waldron, 1996). Los vertebrados no poseen enzimas capaces de degradar enlaces β 1-4, este es el fundamento de la importancia de la simbiosis entre el rumiante y los microorganismos ruminales. Las bacterias ruminales tienen la capacidad de producir celulasas que hidrolizan los enlaces β de la fibra, y también producen amilasas y proteasas, aunque no lipasas (Fondevila, 1998).

La fermentación de la fibra por las bacterias del rumen produce principalmente ácido acético y butírico mientras que la fermentación del almidón produce mayormente ácido láctico y propiónico (France y Siddons, 1993), que son liberados al medio ruminal acompañados de anhídrido carbónico (CO_2), metano (CH_4), N-NH_3 y calor (McDonald, 2006). La flora ruminal utiliza CO_2 y N-NH_3 para formar metano y proteína microbiana la cual es de muy alta calidad y digestibilidad, con una composición en aminoácidos muy estable (Schingoethe,

1996). El CO₂ y el N-NH₃ no utilizados por los microorganismos y los AGV son absorbidos por el epitelio ruminal; ante la falta de oxígeno los iones de hidrógeno se unen al carbono formando metano (CH₄) que es eructado, el exceso de NH₃ pasa a la sangre y se transforma en urea a nivel hepático (McDonald, 2006).

4.2.1. Degradación de la celulosa

La celulosa es el principal carbohidrato de los vegetales ya que compone entre el 10 y el 30 % de la MS. Se encuentra en las fracciones fibrosas de los alimentos combinada con hemicelulosa, lignina, cutina, pectina y minerales. Posee una estructura polimerizada y poco ramificada de unidades de glucosa unidas por enlaces β1-4 glucosídicos (trans) que le confieren una configuración lineal (Relling y Mattioli, 2002).

El proceso de digestión de la celulosa comienza en la masticación del alimento cuando los animales están rumiando, las fracturas creadas en la estructura de la pared vegetal permiten luego la colonización de las bacterias celulolíticas dominantes como *Fibrobacter succinogenes* y *Butyrivibrio fibrisolvens* (ambos bacilos Gram -) y *Ruminococcus albus* y *R. flavefaciens* (cocos Gram +) (Hungate, 1966). La fijación de las bacterias al sustrato se produce por medio del glicocalix. La degradación de la celulosa es un proceso continuo y secuencial, que comienza con la acción de la enzima celulasa C1, que disminuye rápidamente la tensión de la fibra al romper los enlaces de hidrógeno, para que luego las enzimas extracelulares celulasas Cx originan oligosacáridos de bajo peso molecular (celodextrinas). Las celodextrinas se rompen por hidrólisis formando glucosa y celobiosa. La celobiosa es transportada hacia el interior de la bacteria y es atacada por la enzima celobiosafosforilasa liberando glucosa que es aprovechada para obtener energía vía glucolítica liberando AGV, principalmente acetato por el soma bacteriano (Relling y Mattioli, 2002).

4.2.2. Degradación de la hemicelulosa

La hemicelulosa es un polisacárido heteroglicano, con una cadena de xilosas (xilanos) con uniones de β1-4 y una cadena ramificada de arabinosas con uniones β1-3 y ácido glucurónico (uniones β1-2, 1-3 y 1-4). No es soluble en agua y constituye entre el 30 40% de los carbohidratos estructurales totales en una pastura (Dehority, 1973). La misma se degrada gracias a bacterias hemicelulolíticas, hongos anaerobios y algunos géneros de protozoos. Su digestibilidad ronda aproximadamente entre 52 y 84 % en rumen y entre 9 y 45% en ciego y colon (Beever y col, 1972) y está inversamente relacionada al grado de lignificación (Relling y Mattioli, 2002).

4.2.3. Degradación de la lignina

Cuando el forraje es tierno las paredes celulares están compuestas mayormente de pectinas, a medida que maduran se van incorporando celulosa y hemicelulosa, que la vuelvan más rígida para que luego se infiltre lignina y se torne de un color amarillo, característico del forraje maduro. La lignina no es un azúcar, es un polímero de alto peso molecular derivado del fenil-propano, que está muy asociado a la pared celular vegetal, aportando resistencia y soporte estructural. Es el principal factor que limita la digestibilidad de los nutrientes, porque ni las uniones entre los monómeros de lignina ni sus uniones a la celulosa o hemicelulosa pueden ser atacadas por las enzimas de los rumiantes o los microorganismos anaerobios (Jung y Deetz, 1993; Relling y Mattioli, 2002).

4.2.4. Degradación del almidón

El almidón es un polisacárido homoglicano, constituido por cantidades variables de amilosa y amilopectina, que se encuentra como carbohidrato de reserva en granos y en mucha menor cantidad en tallos y hojas de leguminosas y gramíneas tropicales. La degradabilidad ruminal del almidón varía en los diferentes cereales de mayor a menor en este orden: avena, trigo, cebada, maíz y sorgo (Herrera-Saldana y col., 1990). La degradación del almidón en el rumen hacia AGV se realiza por amilasas bacterianas, las principales bacterias amilolíticas son: *Selenomonas ruminatium*, *Streptococcus bovis*, *Succinivibrio dextrinosolvens* (Hungate, 1966), también se puede degradar en el intestino por enzimas del animal. La digestión ruminal del almidón produce una alta concentración de AGV, donde se destaca el aumento en la proporción molar de ácido propiónico, contrariamente a la digestión del forraje fibroso donde se genera una mayor proporción molar de ácido acético. El 80% del ácido propiónico absorbido por las paredes del rumen se transforma en glucosa mediante un proceso metabólico en el hígado (gluconeogénesis), mientras que el acético y butírico generan ATP en rumen por medio del ciclo cítrico (Van Houtert, 1993).

4.3. Metabolismo ruminal de las proteínas

La degradación de las proteínas en el rumen depende de la conjugación de tres procesos catabólicos: la proteólisis, la péptidolisis y la desaminación. Los péptidos y aminoácidos producidos por la acción de las proteasas y otras enzimas localizadas en la pared bacteriana se transportan hacia el interior de las células microbianas donde pueden continuar degradándose por la acción de las enzimas peptidasas hasta liberar los aminoácidos que los componen y, por último, los aminoácidos pueden ser desaminados y producir AGV, CO₂ y NH₃ (Nolan y Dobos, 2005).

Lo más importante es que los microorganismos ruminales son capaces de sintetizar *de novo* los diez aminoácidos esenciales para los tejidos de los mamíferos (Nolan y Dobos, 2005), esta síntesis de aminoácidos se realiza a

partir de NH_3 y esqueletos carbonados simples, producidos durante la degradación del alimento.

El NH_3 es el intermediario central en la degradación y asimilación del N en el rumen, la posibilidad de utilizar el NH_3 permite a los microorganismos del rumen reciclar cantidades importantes de urea, provenientes del metabolismo intermediario del animal, como fuente de N para la síntesis de PM (Nolan y Dobos, 2005). Este proceso, conocido como ciclo de la urea, es el resultado de la adaptación de los rumiantes al uso ineficiente de las proteínas en el rumen, para evitar la toxicidad de las moléculas de amoníaco y aprovechar el N que se libera (McDonald, 2006).

El metabolismo del N en el rumen fue revisado por varios autores (Ørskov, 1992; Stern y col., 1994; Dewhurst y col., 2000; Bach y col., 2005; Nolan y Dobos, 2005) que concuerdan en que la síntesis de PM se puede maximizar, si se sincroniza la disponibilidad de energía fermentable y de N degradable para los microorganismos en el rumen. El efecto de sincronizar o no el aporte de energía y proteína en ovinos fue investigado por Henning y col., (1993), mediante el suministro intraruminal de una mezcla de carbohidratos solubles y una mezcla de urea y caseinato de sodio como fuente de proteínas, en iguales dosis cada 12 horas o en infusión constante. El aporte constante de carbohidratos aumentó la eficiencia de síntesis de PM, pero no tuvo efectos sobre la eficiencia de síntesis o aporte total de PM, en los diferentes niveles de sincronización de energía y proteína. Finalmente concluyeron que la disponibilidad constante de energía, es más importante para el crecimiento microbiano, que la sincronización de la fermentescibilidad de la energía y la proteína, siempre y cuando el nitrógeno no sea un factor limitante.

Según Ørskov (1992) la PM que se produce en el rumen proporciona más de la mitad de los aminoácidos absorbidos por los rumiantes y puede constituir hasta el 60 % del total de aminoácidos que ingresan al duodeno en animales que consumen dietas fibrosas con bajo contenido proteico (Clark y col., 1992).

Según Dewhurst y col., (2000) la síntesis de PM depende de algunos factores como el nivel proteico de la dieta, la cantidad y disponibilidad de N, el nivel de ingesta, y, fundamentalmente, la cantidad, disponibilidad, tipo y balance de carbohidratos en la dieta. En este sentido Stern y Hoover, (1979) luego de una revisión sobre artículos que midieron la síntesis de PM en rumiantes observaron que, en promedio se producen 16,9 ($\pm 6,2$) g PM cada 100 g de MO digestible, con mínimos y máximos de 6,3 a 30,7g.

Burroughs, (1974) propuso una eficiencia del 13 % de los NDT ingeridos para la síntesis de PM (13 g de PM por cada 100 g de TND). Sin embargo, este valor no contempla todas las situaciones. En raciones con muy alta o baja digestibilidad, por diferentes razones, la eficiencia es menor. Las raciones de alta digestibilidad están compuestas mayoritariamente por concentrados

energéticos, lo que reduce el pH ruminal y el crecimiento bacteriano, produciendo una disminución de la eficiencia de conversión de la proteína y la energía a PM. En este sentido, Russell y col., (1992) utilizaron la FND efectiva para predecir el pH ruminal y ajustar la eficiencia de síntesis de PM para raciones de alta digestibilidad, propusieron disminuir la eficiencia de síntesis de PM en un 2,2 % por cada 1 % de FND efectiva por debajo del 20 % en la dieta total.

4.3. Las pasturas templadas y su efecto en el ambiente ruminal

En nuestro país la mayoría de los predios intensivos y semi-intensivos de producción de bovinos utilizan como principal recurso forrajero verdes y praderas compuestas por gramíneas, leguminosas o sus mezclas. Entre las gramíneas merecen destacarse la festuca (*Festuca arundinacea*) y el raigrás anual (*Lolium multiflorum*), las cuales presentan rangos amplios de adaptación a suelos y manejos. Por su parte las principales leguminosas incluyen el trébol blanco (*Trifolium repens*) y el lotus (*Lotus corniculatus*), a los que debe agregarse la alfalfa (*Medicago sativa*) y el trébol rojo (*Trifolium pratense*) (Carámbula, 1991).

Según Bargo y col. (2003), las pasturas templadas contienen entre un 18 y 24% de materia seca (MS), 18 a 25% de proteína bruta (PB) y 40 a 45% de fibra neutro detergente (FND) por lo que en condiciones de pastoreo (considerando animales de producción media) aportan todos los nutrientes que el animal necesita a un bajo costo. Pero si las demandas son mayores (animales de alta producción), la concentración energética de este tipo de alimentos, en adición a sus altos contenidos de humedad y fibra puede repercutir en bajos consumos de MS y energía (NRC, 2001), tornándose limitantes, ya sea en cantidad como en el balance de los nutrientes aportados (carbohidratos solubles y sustancias nitrogenadas).

Cajarville y col., (2007) en un relevamiento nacional de pasturas implantadas en establecimientos productivos, cortadas en distintos períodos del año a diferentes horarios del día y en el momento en que los predios consideraban como el óptimo para su pastoreo, reportaron que este tipo de pastura presenta un alto valor nutritivo y entre un 6 a 10 % de azúcares solubles dependiendo de la hora del día en que se cortaban.

Caramelli y col., (2008) en un trabajo donde evaluaron la composición química de 30 muestras de forrajes en estado vegetativo, correspondientes a 18 especies diferentes, cortadas en 3 horarios del día (9:00, 13:00 y 17:00 h), encontraron en promedio contenidos de FND de 47% para gramíneas (géneros: *Avena*, *Bromus*, *Lolium*) y 32% para leguminosas (géneros: *Trifolium*, *Lotus*). Estas pasturas son muy fermentescibles y aportan sustancias nitrogenadas altamente solubles y rápidamente degradables en rumen (Bargo y col., 2003; Cajarville y Repetto, 2005) y generan concentraciones de AGV de

entre 100 y 120 mmol/L, con relaciones acético/propiónico 3,5-4,0/1 (Bargo y col. 2003). La DIGa in vivo de la MS de estas pasturas ha sido en algunos casos superior a 70% debido a la elevada digestibilidad de la fibra (Tebot y col., 2008; Aguerre, 2010). En cambio, en otras oportunidades la DIGa de la MS fue cercana al 65% (Pérez-Ruchel, 2010; Aguerre, 2010).

En trabajos realizados por los Departamentos de Bovinos y Nutrición Animal de Facultad de Veterinaria con bovinos y ovinos consumiendo pasturas templadas de alta calidad se observaron valores de N-NH₃ que varían entre 15 y 30 mg/dL para bovinos (Cajarville y col., 2006) y entre 25 y 45 mg/dL para ovinos (Pérez-Ruchel, 2006; Aguerre y col., 2009). Estos valores están por encima de los 5 mg/dL que señalan Satter y Slyter (1974) como el nivel mínimo de N-NH₃ para un adecuado crecimiento microbiano, considerando que una adecuada concentración de N-NH₃ es esencial para el crecimiento microbiano, principalmente para las bacterias celulolíticas (Van Soest, 1994).

Pérez-Ruchel y col., (2013) trabajando con ovinos alimentados con una pastura compuesta principalmente por leguminosas (*Lotus corniculatus* y *Lolium multiflorum*, *Trifolium pratense* y *T. repens*) con un contenido de 29,5% de MS y 44,4% de FND; 28,5% de FAD y 12,8% de PB; en base seca reportó concentraciones medias de 23,7 mg/dL de N-NH₃ durante 24 h ubicándose los valores mínimos en niveles superiores a 16 mg/dL.

4.4. La suplementación como estrategia de intensificación

El modelo NRC (2001) recomienda la inclusión de fibra en la ración porque aporta una textura física al contenido ruminal que estimula la rumia, la masticación, la secreción salivar y regula el ritmo de paso; para esto se introdujo una diferenciación química (porcentaje de fibra en la ración) y una física (porcentaje de fibra procedente del forraje en la ración) valorando las acciones de la fibra en la alimentación de rumiantes. La fibra fermenta lentamente y aporta poca energía generando poca cantidad de AGV en rumen, por esto los sistemas de alimentación animal han venido disminuyendo su proporción en las raciones para maximizar los aportes energéticos. Para aumentar la producción de un sistema ganadero, existen alternativas que permiten intensificar el uso de los recursos como ser el uso del suelo, mejoramiento de las pasturas y la eficiencia productiva de los animales. Una alternativa muy utilizada consiste en adicionar alimentos ricos en energía (granos de cereales, subproductos de molinería y forrajes conservados) a las dietas basadas en pasturas (Elizalde y Santini, 1992). Esto ha demostrado ser una herramienta muy eficaz para contribuir a la mejora del resultado económico en sistemas pastoriles (Simeone y Beretta, 2005; Aguerre, 2010) al aumentar el consumo energético y el consumo de materia seca total (Peyraud y Delaby, 2001; Dixon y Stockdale, 1999; Stockdale, 2000). En nuestro país la principal fuente de alimento de alta calidad que manejan los sistemas ganaderos semi-intensivos la constituyen praderas y verdeos pastoreados en forma directa o

como reservas, aunque a veces se utiliza una suplementación con granos o con una ración completa, como en el caso de tambos o en engordes a corral (feedlot), o bien en el caso de suplementaciones continuas o estratégicas sobre verdeos o pasturas en invernada.

Lange (1980) afirma que mediante la suplementación a animales en pastoreo con concentrados se puede aumentar el nivel de producción individual, proporcionando los nutrientes cuya insuficiencia hace que la producción por animal sea sub-óptima, aumentar el consumo total de MS y el consumo de energía frente a dietas compuestas únicamente por pasturas (Stockdale, 2000; Peyraud y Delaby, 2001) para finalmente aumentar la carga del predio (Montossi y Soares de Lima, 2014) logrando una mayor utilización de la producción de forraje siendo una alternativa con costo y riesgo limitado que mejora el ingreso neto predial (Pereira y Soca, 2000).

Esta tecnología permite mejorar la performance de las diferentes categorías animales desde la cría y el destete hasta el engorde y terminación (Montossi y Soares de Lima, 2014). Trabajos realizados por Meikle y col. (2004) y Cavestany y col. (2009) en ganado lechero, suplementado con concentrado energético los últimos 21 días de gestación, obtuvieron como resultado que la ovulación ocurrió 12 días más temprano en vacas multíparas frente a las no suplementadas. Trabajos donde se investigó el destete precoz de terneros recomiendan periodos de entre 60 a 90 días de suplementación con raciones de altos niveles proteicos al 1 - 1,5 % del PV para obtener ganancias de peso entre 600 y 800 g/d (Quintans, 2014).

El primer invierno de las vaquillonas luego del destete es un período donde la baja disponibilidad y calidad del campo natural provoca pérdidas de peso siendo un factor negativo que retrasa la aparición y mantenimiento de los ciclos estrales en esta categoría; Quintans y col. (1993), Quintans y VazMartins (1994), Quintans (1994) mediante una serie de trabajos donde evaluaron los distintos tipos y niveles de suplemento, y distintas disponibilidades de campo natural en invierno, obtuvieron como resultado que al evitar esa pérdida de peso temporal se adelanta la aparición de la pubertad en vaquillonas y mejora la eficiencia reproductiva al primer servicio.

Considerando la necesidad de aumentar, la producción de carne y carga animal por hectárea y disminuir la mano de obra en sistemas de invernada a campo natural o mejorado, La Manna y col., (2005) llevaron a cabo dos experimentos, donde se estudió el efecto de la suplementación infrecuente con afrechillo de arroz sin desgrasar en terneros; obteniendo como resultado una mayor producción de PV, área de ojo de bife, espesor de grasa sub cutánea y altura de anca, respecto a los no suplementados.

4.5. Respuesta a la suplementación

El efecto de la suplementación sobre el consumo de forraje, NDT y DIGa de la dieta dependen de una serie de factores que se pueden agrupar en aquellos atribuibles a la pastura (cantidad y calidad), al suplemento (procesamiento, cantidad) y al animal (categoría, potencial genético; Paterson y col., 1994; Dixon y Stockdale, 1999; Bargo y col. 2003).

Pigurina y col., (1997) afirma que la digestibilidad, el contenido de proteína y de fibra determinan el valor nutritivo del forraje utilizado. Manejando estos tres factores se puede definir las limitaciones desde el punto de vista de la pastura y planificar el tipo y el uso de un suplemento, que a su vez determina una serie de efectos sobre el consumo de pastura. A partir de esto surgen diferentes efectos:

- Efecto aditivo: los nutrientes incorporados por el suplemento se adicionan totalmente a los de la pastura. Esto ocurre cuando el animal no completa sus requerimientos con el consumo de la pastura. Esta situación puede ocurrir con forrajes poco apetecibles, de baja digestibilidad, escasos o con tiempo de pastoreo restringidos (Lange, 1980, Viglizzo, 1981).
- Efecto sustitutivo: el agregado de suplementos determina que se sustituya parte de la dieta básica (pastura) y esto ocurre cuando el animal satisface sus necesidades a partir de dicha dieta básica (Milne y col., 1982).
- Efecto aditivo-sustitutivo: Comprende todas las situaciones intermedias citadas en los dos casos anteriores. Ocurre cuando la demanda de forraje es mayor que la oferta.
- Efecto adición con estímulo: Ocurre cuando la dieta básica es abundante, pero de baja calidad. La adición de suplemento proteico y/o energético puede mejorar la actividad microbiana en el rumen y por lo tanto la digestibilidad de los forrajes y estimular un mayor nivel de consumo del mismo.
- Efecto depresivo: Este ocurre normalmente cuando el suplemento es de menor valor nutritivo que la pastura. Esto determina disminuciones en el consumo de pasturas superiores al volumen del suplemento digerido.

La oferta de forraje y/o disponibilidad de forraje por animal es el principal factor en determinar la respuesta a la suplementación, como lo demuestran la mayoría de los ensayos que cuantificaron la respuesta animal al suplementar con concentrados energéticos frente a variaciones en las asignaciones de forraje. Estos experimentos encontraron que a mayor disponibilidad de forraje la eficiencia de la suplementación era menor (Risso y col., 1997; Simeone y col., 2005; Vaz Martins y col. 2005). Forbes (2007) predice que la tasa de sustitución (TS) será alta si la ingesta de energía en la dieta es alta en relación a las necesidades de los animales o si la cantidad de granos en la dieta tiene

efecto adverso en el rumen que no permite una buena digestión ruminal y concuerda con otros autores en que la TS es mayor cuando las pasturas son de mayor calidad (Leibholz y Kellaway, 1984; Bines 1985), tienen elevada disponibilidad (Bargo y col. 2002; Grainger y Mathews 1989; Meijs y Hoekstra 1984; Robaina y col. 1998; Stockdale y Trigg 1985), o mayor digestibilidad (Hodgson, 1999). La TS es calculada como: $TS \text{ (kg/kg)} = (A-B) / C$. Donde A representa el consumo de MS de forraje del grupo sin suplemento, B el consumo de MS de forraje del grupo suplementado y C los kg de suplemento consumido por los animales. Cuando la TS es menor que 1, el consumo total del grupo suplementado es mayor al del grupo sin suplementar. Cuando es igual a 1, no hay diferencias entre el consumo del grupo sin suplementar y del suplementado. Tasas de sustitución mayores 1, indican que la suplementación resulta en caídas de consumo total respecto al grupo sin suplementar.

Otros autores vinculan la TS al estatus energético del animal y afirman que animales con demandas elevadas de energía, no satisfechas por las pasturas, responden a la suplementación con bajas tasas de sustitución (Sairanen y col., 2005; Forbes, 2007; McEvoy y col., 2008). Moore y col., (1999) luego de una revisión de 66 artículos para estimar los efectos de la suplementación (energía y proteína), concluyó que los suplementos disminuyeron el consumo voluntario cuando la ingesta de NDT del suplemento fue mayor de 0,7% del PV, cuando la relación NDT: PC fue menor a 7, o cuando el consumo de forraje voluntario fue mayor al 1,75% del PV.

Existen elementos importantes a tener en cuenta como la composición y la cantidad total suministrada y la cantidad de veces diarias en que se suministre, al incrementar el volumen total de concentrado o disminuir la frecuencia de suministro consecuentemente se generan condiciones ruminales extremas que pueden reducir el consumo de forraje (Elizalde y col., 1999), disminuir el pH ruminal (Cajarville y col., 2006) y la digestibilidad de la fibra (Hoover, 1986; Van Soest, 1994; Tebot y col., 2012).

Aguerre (2010) trabajando con vaquillonas consumiendo una pastura fresca en estado vegetativo, compuesta *Lotus corniculatus* y *Lolium multiflorum* suplementadas a diferentes niveles con sorgo molido, concluyó que se incrementó el consumo y la eficiencia de utilización de la dieta global frente a los animales no suplementados, pero no obtuvo mejores resultados al incrementar el nivel de suplementación de 0,5 a 1,5 % del PV.

Diversas teorías se han planteado para explicar porque se da el efecto de sustitución cuando se suplementa con granos a animales consumiendo pasturas. Una de ellas sugirió que la inclusión de concentrados energéticos en dietas basadas en forrajes provoca caídas en el pH ruminal, disminuye la actividad de la flora celulolítica en el rumen y disminuye la tasa de degradación de la fibra; según Dixon y Stockdale (1999) esto ocurre cuando se dan efectos asociativos negativos entre alimentos que limitan el crecimiento microbiano.

Mould y Ørskov (1983) en un trabajo donde alimentaron animales con una dieta de alta proporción de granos y otra de alta proporción de forrajes, manipulada con ácidos o bases para lograr bajos valores de pH en la dieta de forraje y altos valores en la de concentrados, demostraron que algunos de los efectos en la fermentación y la digestibilidad de los nutrientes se explicaban solamente por el bajo valor de pH, pero la composición de la dieta también influyó en la reducción de la digestibilidad de la fibra y lo catalogaron como “efecto carbohidrato”.

Una revisión realizada por Hoover (1986) concluye que la disminución en la digestibilidad de la fibra en rumen se debe a una disminución del pH ruminal, una competencia por los nutrientes esenciales que resulta en la multiplicación preferencial de la flora amilolítica y una preferencia de los microorganismos del rumen por atacar carbohidratos rápidamente fermentescibles (CRF) en lugar de componentes de la fibra. Paralelamente Shriver y col., (1986) en un trabajo de cultivo continuo de fermentación para determinar el efecto del pH y la tasa de pasaje, concluyó que la digestibilidad de la MO y FND disminuyó significativamente a pH 5,8, aumentó notablemente a pH 6,2 y presentó un ligero aumento a pH 7,0. Además observó que a pH 5,8 hubo una marcada disminución de microorganismos unidos a partículas, lo que fue compatible con la disminución de la digestión de fibra. En este sentido Farenzena y col., (2014) observó que la actividad de las enzimas fibrolíticas fue máxima a pH 6,0 aunque la degradación del forraje fue afectada cuando disminuyó el pH debido a una menor adherencia bacteriana.

En cambio, cuando la ingesta de energía es mayor de lo esperado, se dan efectos asociativos positivos debidos a que el grano proporciona un nutriente que es deficiente en el forraje, estos pequeños efectos también pueden ser debidos a la estimulación de la digestión de forraje por bajos niveles de granos en la dieta (Dixon y Stockdale, 1999). Hay pruebas de que estos efectos asociativos positivos pueden ocurrir cuando los niveles bajos de CRF (<10% de la dieta) se mezclan con forrajes de baja y media calidad debido a un aumento de la digestibilidad de la MO (Moore y col., 1999) generando la estimulación de la digestión microbiana del forraje y aumentando la eficiencia de síntesis de proteína microbiana (Leibholz y Kellaway, 1984; Opatpatanakit y col., 1995).

Conocer la digestibilidad de los alimentos es básico para determinar su valor nutritivo y poder utilizarlos como componentes de las raciones de rumiantes. Generalmente la MO de los concentrados tiene elevada digestibilidad respecto al forraje, por este motivo incluirlos en la alimentación de animales consumiendo únicamente pasturas tendría como resultado un aumento en la digestión de la dieta. (Dixon y Stockdale, 1999; Bargo y col., 2003). Existe mucha controversia sobre este tema donde autores afirman que la digestibilidad de la MS y MO aumentan al incluir concentrados (Elizalde y col., 1999; Reis y Combs, 2000; Azevedo do Amaral, 2008) y en cambio otros no

observaron cambios significativos en esta variable (Van Vuuren y col., 1993; García y col., 2000).

4.6. Efecto del suministro de concentrado sobre la digestibilidad de la fibra de la dieta

Algunos estudios se han enfocado en disminuir la FS para disminuir los costos del sistema. Chase y Hibberd (1989) evaluaron el efecto del nivel de suplementación y la FS con maíz sobre la digestibilidad y el consumo, en vaquillonas consumiendo pasturas de baja calidad, utilizando dos niveles (1 y 2 Kg de maíz) y dos frecuencias de suplementación (diario y día por medio); estos autores observaron que la frecuencia no afectó la digestibilidad de la MO de la pastura. La Manna y col., (2005) mediante dos experimentos en diferentes lugares y condiciones con corderos y vaquillonas observaron que en una dieta donde la proteína no es limitante, suministrar maíz al 1% del PV, todos los días o día por medio, permite mantener la ganancia diaria y ahorrar trabajo en predios de recría de vaquillonas y corderos.

Kaufmann (1976) planteo que la adaptación de la flora ruminal al modificar la composición de la dieta está regulada principalmente por el valor de pH, producto del proceso de rumia y producción de saliva; esto es porque una dieta con baja fibra disminuye la intensidad y la duración de la rumia, que lleva a una menor producción de saliva con un descenso en los valores de pH y cambios en la microflora ruminal. Al aumentar la frecuencia en que se suministra el suplemento, el autor afirma que se logran menores descensos de pH y asume que en dietas con mayor proporción de concentrado se debe incrementar la FS; el mecanismo de adaptación en este caso sería un aumento en la tasa de pasaje, con menor fermentación ruminal y mayor escape de carbohidratos solubles no fermentados al intestino, aunque en el caso que disminuya el pH intestinal, debido a una elevada tasa de pasaje, se reduce la digestibilidad.

Una revisión de trabajos en ganado de carne concluyó que al aumentar la frecuencia diaria de suministro del concentrado se produjo una mayor ganancia de peso, que fue atribuida a un mayor consumo y aprovechamiento digestivo de la dieta (Gibson, 1981). Shabi y col., (1999) en un experimento donde utilizaron vacas Holando de Israel, suplementadas con dietas altas en concentrados, concluyó que la digestibilidad total de la MO aumentó, debido a una mayor digestibilidad postruminal, cuando se suplementó 4 vs. 2 veces al día. Dhiman y col., (2002) trabajando con vacas alimentadas con una dieta totalmente mezclada, compuesta por 45 % forraje y 55 % grano de maíz en diferentes presentaciones y suministrada a diferentes frecuencias, concluyó que la FS no afectó el consumo de materia seca, aunque la digestibilidad de la FND mejoró un 19% al pasar de 1 a 4 veces diarias la suplementación con maíz molido fino y hojuelas de maíz. De Vries y col., (2005) concluyeron que al aumentar la frecuencia en que ofrecían la ración totalmente mezclada

aumentaba el tiempo que las vacas dedicaban a alimentarse, provocando mayor consumo y mejor producción.

Por otra parte, un trabajo realizado por Pulido y col., (2009) con vacas lecheras con una dieta en base a pasturas y suplementadas con granos 2, 3 o 4 veces al día, encontraron que al incrementar la FS de 2 a 4 veces por día, se producían descensos en el consumo de pastura, el tiempo dedicado a alimentarse y a rumiar. Robles y col., (2007) no encontraron diferencias en el consumo de MS al suplementar hasta 4 veces diarias vaquillonas Holstein con concentrado y paja de cebada *ad libitum*.

Teniendo en cuenta los resultados encontrados por la bibliografía revisada anteriormente es que nos planteamos que aumentar la FS al 1% de PV en animales consumiendo una pastura de mediana calidad, puede ser una alternativa para aumentar la DIGa de la dieta.

5. HIPÓTESIS

La suplementación y el incremento de la frecuencia de suministro del grano de maíz aumentarán la digestibilidad de la dieta y el consumo de nutrientes digestibles totales.

6. OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto de la suplementación y de la frecuencia de suplementación en vaquillonas consumiendo una pastura templada, a las que no se les suministró o se le suministró grano de maíz una, dos u ocho veces al día a razón de 1% del PV en base fresca, sobre el consumo de nutrientes y el aprovechamiento digestivo de la dieta.

Objetivos específicos

- Determinar el consumo de nutrientes digestibles totales de la dieta y de pastura.
- Calcular la digestibilidad aparente *in vivo* de la MS, MO, PB, FND y FAD de la dieta.
- Determinar el consumo de fracciones digestibles de la MS, MO, PB, FND y FAD.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. UBICACIÓN

El trabajo de campo y el procesamiento primario de las muestras se realizó en el Campo Experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria (Ruta 1 km 42,5 Libertad, San José, Uruguay). Los análisis de composición química de alimentos y heces, se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Veterinaria en Montevideo, Uruguay.

El protocolo experimental fue aprobado por la comisión de ética en el uso de animales (CEUA) de la Facultad de Veterinaria (CEUAFVET-PI11).

7.2. ANIMALES E INSTALACIONES

Fueron utilizadas 20 vaquillonas Hereford de 18 meses de edad de 250 ± 22 kg de PV, las que fueron bloqueadas según su PV y asignadas al azar a uno de los cuatro tratamientos ($n=5$ por tratamiento). La duración total del trabajo experimental fue de 17 días de los cuales 10 fueron un periodo de adaptación de los animales, a las instalaciones, la dieta y el manejo, seguido de 7 días de determinaciones y muestreos. Durante el experimento se mantuvieron en corrales individuales donde se les ofreció forraje y agua *ad libitum*, más suplemento en los tratamientos correspondientes.

7.3. TRATAMIENTOS

Todos los días, al mediodía, el forraje fue cortado a 5 cm del suelo con una rotativa y transportado al lugar del experimento, donde se ofreció *ad libitum* a partir de la hora 9:00 a las vaquillonas de todos los tratamientos. El forraje ofrecido estaba compuesto por 98,5% *Lolium multiflorum* y 1,5% *Trifolium repens* (Cuadro I). A todos los animales se les ofreció agua potable *ad libitum* en bebederos individuales.

Como suplemento se utilizó GMM (Cuadro I), que fue ofrecido a razón de 1% del PV de las vaquillonas y suministrado de acuerdo a la frecuencia establecida para cada tratamiento.

Los cuatro tratamientos fueron:

T₀: sólo forraje, ofrecido *ad libitum*.

T₁: Forraje *ad libitum* + GMM a razón de 1% del PV ofrecido una vez al día (9:00 hs).

T₂: Forraje *ad libitum* + GMM a razón de 1% del PV ofrecido en 2 comidas diarias (9:00 y 21:15).

T₈: Forraje *ad libitum* + GMM a razón de 1% del PV ofrecido en 8 comidas diarias (9:00, 10:45, 12:30, 14:15, 16:00, 17:45, 19:30 y 21:15).

CUADRO I. Composición química de los alimentos (media±DE)^a

	Forraje^b	Grano de maíz
MS	24 ± 1,4	82 ± 0,2
MO	91 ± 0,1	99 ± 0,5
PB	9 ± 0,8	7 ± 0,2
FND	53 ± 6,2	10 ± 0,5
FAD	35 ± 7,9	3 ± 0,4
EE	2 ± 0,2	4 ± 0,3

^a MS: % de materia seca; MO: materia orgánica como % de la MS; PB: proteína bruta (N x 6,25) como % de la MS; FND: fibra neutro detergente utilizando amilasa termorresistente y sulfito de sodio, expresada como % de la MS descontando el contenido de cenizas; FAD: fibra ácido detergente determinada en forma no secuencial y expresada como % de la MS, descontando el contenido de cenizas; EE: extracto al éter como % de la MS.

^b Compuesto por 98,5% *Lolium multiflorum* y 1,5% *Trifolium repens* (n= 10).

^c Grano de maíz seco y molido (n= 2)

7.4. ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ALIMENTOS

Para los análisis de composición del forraje se tomaron muestras diariamente y para el GMM se tomaron dos muestras (una al inicio y otra al final del período de mediciones), a partir de las cuales se determinó MS, MO y PB (N x 6,25) de acuerdo con AOAC (1990). Las determinaciones de FND y FAD se realizarán según Mertens (2003). Todas las muestras fueron analizadas por duplicado, aceptando coeficientes de variación máximo entre análisis del 5%.

7.5. MEDICIONES Y DETERMINACIONES

Se estimó durante 7 días consecutivos el consumo total de MS, de pastura y de grano, como la diferencia entre lo ofrecido y lo rechazado en un lapso de 24 horas.

$$\text{Consumo (g)} = (\text{g ofrecidos} - \text{g rechazados})$$

El porcentaje de NTD del alimento se calculó como:

$$\text{NDT (\%MS)} = \text{digCNF} + \text{digPB} + (\text{digAG} \times 2,25) + \text{digFND} - 7$$

NRC (2001)

Donde:

$$\text{digCNF} = \text{Digestibilidad verdadera de carbohidratos no} = 0,98(100 - [(FND - PBIDN) + PB + EE + \text{Cenizas}]) \times \text{FAP}$$

	fibrosos	
PBIDN	Proteína bruta insoluble en detergente neutro	= N insoluble en detergente neutro × 6,25
FAP	Factor de ajuste por procesado	= 1,0 para grano de maíz molido y forrajes según las recomendaciones de NRC, 2001.
<i>digPB</i>	Digestibilidad verdadera de la proteína bruta	forrajes = $PB \times \exp.[-1,2 \times (PBIDA/PB)]$ concentrados = $PB \times [1 \times (0,4 \times (PBIDA/PB))]$
PBIDA	Proteína bruta insoluble en detergente ácido	= N insoluble en detergente ácido × 6,25
<i>digAG</i>	Digestibilidad verdadera de los ácidos grasos (AG)	= AG. AG = EE - 1. Si el EE es <1, entonces AG = 0.
<i>digFND</i>	Digestibilidad verdadera de la fibra neutro detergente	= $0,75 \times (FNDn - \text{Lignina}) \times [1 - (\text{Lignina}/FNDn)^{0,667}]$
FNDn	Fibra neutro detergente libre de nitrógeno	= FND - PBIDN

El consumo de NDT se calculó como el producto entre el consumo de MS de los alimentos (expresado en kg/d) y el % de NDT de la pastura y el suplemento.

$$\text{Consumo de NDT (kg/d)} = \text{kg MS consumidos} \times \% \text{ NDT}$$

Diariamente se colectó la totalidad de la materia fecal emitida por las vaquillonas en bandejas plásticas, registrando los kg de heces emitida por cada animal. Luego de homogeneizar, se extrajeron muestras de 500 g que se conservaron a -18°C para su posterior análisis. Dichas muestras se secaron por 48 horas a 60°C y se armó un pool de heces por animal, respetando la proporción de MS emitida diariamente. Con cada pool se determinaron las fracciones de MS, MO, PB, FND, FAD y cenizas en las heces. Con los datos de consumo y los datos de las heces se calculó la DIGa de la MS, MO, PB, FND y FAD como:

$$\text{DIGa} = \frac{(\text{g consumidos} - \text{g en heces}) \times 100}{\text{g consumidos}}$$

El consumo de las fracciones digeribles de la dieta se calculó como el producto entre el consumo de las fracciones de la dieta por su digeribilidad aparente (DIGa).

$$\text{Consumo de fracciones digeribles (g/kg PV/d)} = \text{Consumo} \times \text{DIGa}$$

7.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con la versión 9.0 del software SAS (SAS Institute Inc, Cary, NC, EE.UU.). El consumo de las distintas fracciones de la dieta (MS, MO, PB, FND, FAD) y la DIGa de las distintas fracciones (MS, MO, PB, FND, FAD), fueron analizadas mediante PROC MIXED de SAS (2002). El efecto de la suplementación se analizó por contrastes en el que se comparó la media de T0 con la de todos los tratamientos con suplementación (S), mientras que el efecto de la FS (T1, T2 y T8) se analizó por regresión lineal y cuadrática según el siguiente modelo:

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

Donde:

Y_{ijk} es la variable en estudio, μ la media, T_i el efecto del tratamiento, B_j el efecto aleatorio del bloque y e_{ij} la sumatoria de errores. Serán declaradas diferencias significativas con $P \leq 0,05$ y como tendencias valores de $0,05 < P < 0,10$.

8. RESULTADOS Y DISCUSION

El consumo de NDT y el consumo de las fracciones digestibles de la dieta se presentan en el Cuadro II. El consumo de NDT de la dieta total fue un 25% mayor en las vaquillonas suplementadas frente a las no suplementadas (4,29 vs. 5,61 kg/d; $p=0,003$). Este mayor consumo se debió al suministro de grano de maíz, ya que el consumo de NDT provenientes de la pasturas no difirió entre tratamientos (cuadro II), lo que generó a su vez una respuesta aditiva en el consumo de NDT en las vaquillonas suplementadas.

CUADRO II. Consumo de NDT^a y fracciones digestibles de las dietas en vaquillonas de carne sin suplementar o suplementadas con grano de maíz molido a razón del 1 % de su peso vivo a diferentes frecuencias diarias.

	T0	T1	T2	T8	EEM ^b	T0 vs. S ^c	L ^c	C ^c
Consumo NDT ^a (kg/d)								
De la dieta total	4,29	5,73	5,92	5,20	0,29	0,003	0,752	0,620
De la pastura	4,29	3,79	3,99	3,99	0,28	0,658	0,687	0,611
Consumo fracciones digestibles (g/kg PV/d)								
MS	19,7	22,1	24,4	23,6	1,81	0,163	0,901	0,230
MO	18,2	20,9	22,9	22,2	1,64	0,110	0,891	0,235
PB	1,8	1,78	1,7	1,8	0,22	0,980	0,934	0,782
FND	12,4	11,0	12,3	11,6	1,16	0,677	0,953	0,324
FAD	6,9	5,9	6,5	6,0	0,64	0,552	0,690	0,468

^aNutrientes digestibles totales calculado según NRC, 2001 como: NDT (kg/d) =kg consumidos * % NDT.

^bError estándar de la media (n=5 por tratamiento).

^cNivel de significancia para el contraste T0 vs. S = No suplementados vs. Suplementados; L = efecto lineal y C = efecto cuadrático de la frecuencia de suplementación. P-valores indican diferencias cuando $\leq 0,05$ y tendencias cuando $0,05 < P < 0,10$.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Stockdale (2000) y Peyraud y Delaby (2001), que expresan que el principal objetivo de la suplementación energética es lograr un aumento en el consumo total de nutrientes. Dixon y Stockdale (1999) reportaron que se logran bajas tasas de sustitución cuando se suplementa animales consumiendo pasturas de baja y media calidad. La tasa de sustitución en este experimento fue de -0,275 kg MS/kg de concentrado, sin embargo, debido a la ausencia de diferencias significativas en consumo de MS de la pastura (24,9 g MS/kg PV/día; $p= 0,889$), no es posible afirmar que se haya producido un efecto de sustitución en el consumo (Antúnez, 2015). Según Lange (1980) y Viglizzo (1981) este efecto suele verse cuando se suplementa animales pastoreando forrajes de baja calidad o que tienen poco tiempo de acceso a la pastura. En este caso el forraje utilizado no fue pastoreado, sino que fue cortado y luego ofrecido *ad libitum* por lo que el consumo estuvo limitado por características propias de la pastura.

En este trabajo el contenido de FND de la pastura está por encima de los valores reportados anteriormente por otros autores para pasturas templadas de buena calidad, (Bargo y col. 2003 y Cajarville y col. 2007) se supone que este alto porcentaje de MS y FND se debe a que la pastura ya estaba en estado

avanzado de madurez, igualmente el consumo de FND como porcentaje del PV de las vaquillonas (1,6% del PV en FND) estuvo por encima del valor de referencia (1,2% de FND/kg de PV) reportado por Mertens (1987) por encima del cual se limitaría el consumo.

Según Mertens (1994) el contenido de pared celular de la dieta influye en la regulación del consumo de dos formas, cuando los alimentos tienen menos de 45% de FND, la regulación del consumo es metabólica y cuando los forrajes contienen valores de FND superiores a 45% se da una regulación física. En este último caso, el consumo disminuye porque a mayor contenido de pared celular, menor digestibilidad y tasa de pasaje por el tracto gastrointestinal.

Si bien las vaquillonas suplementadas tuvieron un mayor consumo de NDT, no hubo efecto de la suplementación sobre el consumo de las fracciones digestibles (Cuadro II). Esto se explica porque el contenido de PB, FND y FAD de la dieta estuvo mayormente compuesto por el aporte de la pastura ya que el GMM no aportó cantidades significativas de esas fracciones. El consumo de las fracciones digestibles de la dieta no presentó diferencias significativas, es decir que el hecho de ofrecer la misma cantidad de concentrado a cada vaquillona espaciado a lo largo del día, no generó efectos significativos en el aprovechamiento digestivo de la dieta.

La digestibilidad aparente *in vivo* de la dieta se muestra en el Cuadro III. La inclusión de concentrado representó solo un 25% del total de la dieta consumida y los niveles de suplementación fueron relativamente bajos. Este relativamente bajo nivel de suplementación es más acentuado si los consideramos en materia seca (0,8% del PV) y se produjo como resultado del elevado porcentaje de humedad (18%) del grano de maíz (Cuadro I).

CUADRO III. Digestibilidad aparente (DIGa) *in vivo* de la dieta de vaquillonas de carne sin suplementar o suplementadas con grano de maíz molido a razón del 1 % del peso vivo a diferentes frecuencias diarias.

	T0	T1	T2	T8	EEM ^a	T0 vs. S ^b	L ^b	C ^b
DIGa <i>in vivo</i>								
MS	0,74	0,70	0,74	0,71	0,022	0,198	0,665	0,054
MO	0,76	0,72	0,75	0,73	0,024	0,163	0,750	0,038
PB	0,74	0,65	0,58	0,61	0,028	0,052	0,817	0,412
FND	0,74	0,69	0,72	0,68	0,030	0,101	0,321	0,104
FAD	0,72	0,68	0,69	0,64	0,032	0,096	0,129	0,483

^aError estándar de la media (n=5 por tratamiento).

^bNivel de significancia para el contraste T0 vs. S = No suplementados vs. Suplementados; L = efecto lineal y C = efecto cuadrático de la frecuencia de suplementación. P-valores indican diferencias cuando $\leq 0,05$ y tendencias cuando $0,05 < P < 0,10$.

A pesar que la pastura estaba en un estado fenológico avanzado y que en las gramíneas la hemicelulosa presenta numerosas uniones con la lignina a medida que alcanzan su madurez, la DIGa de la MS de la pastura fue relativamente alta respecto lo reportado en experimentos anteriores que trabajaron con forrajes consumidos *ad libitum*. Pérez-Ruchel (2010), en un experimento con ovinos donde tenían acceso todo el día una pastura compuesta mayormente por leguminosas, reportó valores de digestibilidad aparente de la MS de 64%. Aguerre 2010 en un ensayo con bovinos alimentados *ad libitum* con una pastura fresca en estado vegetativo, compuesta en su mayoría por leguminosas obtuvo valores de digestibilidad aparente de la MS cercanos al 64%. Van Soest (1994) mencionó que las gramíneas templadas presentan una mayor frecuencia relativa a tener valores de digestibilidad más altos que las leguminosas.

Se observó una fuerte tendencia de los tratamientos suplementados a presentar menor digestibilidad de la PB, lo cual podría deberse a que la proteína que aportó el maíz, es en su gran mayoría insoluble y de baja degradabilidad en rumen (FEDNA 2010).

Se aprecia una leve tendencia a que los tratamientos suplementados tengan menores valores de digestibilidad de la FAD. Bargo y col. (2003) afirmaron que la inclusión de concentrados energéticos a la dieta no afecta la digestibilidad de la MO, pero si reduce la digestibilidad de la FND. En este sentido Calsamiglia y col. (2008) constataron que la digestibilidad de la FND de la dieta se explicaba un 100% por el efecto del pH. Sin embargo, en otro trabajo de este mismo experimento el pH ruminal promedio determinado durante 24 hs fue de 6,4 y no hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($p = 0,939$). A pesar de

esto se reporta una fuerte interacción tratamiento por hora, lo que indica curvas de pH ruminal diferentes a lo largo del día (Antúnez, 2015).

Delagarde y col., (1999) afirman que aquellas pasturas que contienen bajos niveles de proteína cruda suelen producir bajas concentraciones de N-NH₃ en rumen y como consecuencia reducen la actividad de la flora celulolítica y la digestión de la fibra, en situaciones en las que los niveles de N-NH₃ sean inferiores a los mínimos requeridos (2,0 mg/dl) para la actividad de la microflora ruminal (Satter y Slyter, 1974). En este sentido Kozloski, (2011) afirma que la suplementación con carbohidratos de rápida fermentación podría acentuar este déficit de N en rumen.

Se observó una tendencia cuadrática en la digestibilidad de la MS y un efecto cuadrático en la digestibilidad de la MO en los tratamientos suplementados. Estos resultados son diferentes a los reportados por Chase y Hibberd, (1989) cuando suplementaron vaquillonas de carne con maíz a dos niveles (1 o 2 Kg de maíz) y dos frecuencias (diaria o día por medio), en este caso los autores reportaron que la digestibilidad aparente de la MO no tuvo diferencias entre tratamientos. Por otra parte, Shabi y col. (1999) trabajando con vacas Holstein en producción alimentadas con una dieta alta en concentrados basada en grano de maíz molido o extrusado; reportan que aumentó la digestibilidad de la MO de la dieta cuando paso de 2 a 4 veces la frecuencia de suplementación. En el presente trabajo el porcentaje de DIGa de la MS y la MO fue máxima cuando la frecuencia de suplementación fue 2 veces al día. Este efecto podría deberse a que el suministro de suplemento coincidió con el momento del día cuando los animales presentaron el mayor consumo de pastura (Antúnez, 2015).

9. CONCLUSIONES

Cuando son utilizadas pasturas maduras, ofrecidas sin restricciones en cantidad, la suplementación a razón del 1% del peso vivo incrementa el consumo total de nutrientes sin afectar el consumo de forraje.

La suplementación afectó escasamente la digestibilidad de las distintas fracciones de la dieta, sin embargo se observó una mayor digestibilidad de la MO cuando los animales fueron suplementados dos veces al día.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguerre M., Repetto J.L., Pérez-Rúchel A., Mendoza A., Pinacchio G., Cajarville C. (2009). Rumen pH and NH₃-N concentration of sheep fed temperate pastures and supplemented or not with sorghum grain. *South African Journal of Animal Science*. 39(1):246-250.
2. Aguerre M. (2010). Suplementación con grano de sorgo a vaquillonas consumiendo una pastura templada: efecto sobre el consumo, el aprovechamiento digestivo y el metabolismo de la glucosa. Tesis de Maestría, Facultad de Veterinaria. Udelar. 45 p.
3. Aguerre M., Cajarville C., Kozloski G.V., Repetto J. L. (2013). Intake and digestive responses by ruminants fed fresh temperate pasture supplemented with increased levels of sorghum grain: A comparison between cattle and sheep. *Animal Feed Science and Technology*. 186:12-19.
4. Annison E. F., Lindsay D. B., Nolan J. V. (2002). Digestion and metabolism. En: Freer M., Dove H. (Eds.). *Sheep Nutrition*. CAB International, Wallingford, UK. pp: 95-118.
5. Antúnez G. (2015) Frecuencia diaria de suplementación en bovinos. Efectos sobre el aprovechamiento digestivo y metabólico de la dieta, la actividad fermentativa y el ambiente ruminal. Tesis de Maestría, Facultad de Veterinaria. Udelar. 55 p.
6. Azevedo do Amaral, G. (2008). Valor alimentar de dietas com azevém (*Lolium multiflorum*, LAM.) e suplementação nitrogenada ou energética. MSc Tesis. Universida de Federal de Santa Maria, Santa María, RS, Brasil.72 p.
7. Aronen I. (1991). Influence of frequency and accuracy of supplement feeding on rumen fermentation, feed intake, diet digestion and performance of growing cattle. 1. Studies with growing bulls fed grass silage ad libitum. *Animal Feed Science and Technology*. 34:49-65.
8. Bach A., Calsamiglia S., Stern M. D. (2005). Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*. 88(1):E9-E21.
9. Bargo F., Muller L. D., Delahoy J. E., Cassidy T. W. (2002). Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. *Journal of Dairy Science*. 85:1777-1792.
10. Bargo F., Muller L. D., Kolver E.S., Delahoy J. E. (2003). Invited review: Production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. *Journal of Dairy Science*. 86:1-42.
11. Beever D. E., Coelho Da Silva J. F., Prescott J. H. D., Armstrong D. G. (1972). The effect in sheep of physical form and stage of growth on the sites of digestion of a dried grass 1. Sites of digestion of organic matter, energy and carbohydrate. *British Journal of Nutrition*.28: 347-356.
12. Bergman E. N. (1990). Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Reviews*. 70(2):567-590.

13. Bines J. A. (1985). Feeding systems and food intake by housed dairy cows. *Proceedings of the Nutrition Society*. 44:355-362.
14. Brett C., Waldron K., (1996). *Physiology and biochemistry of plant cell walls*. 2a ed. London. Chapman & Hall. 260 p.
15. Burroughs W., Trenkle A. H., y Vetter R. L. (1974). A system of protein evaluation for cattle and sheep involving metabolizable protein (amino acids) and urea fermentation potential of feedstuffs. *Veterinary Medicine Small Animal Clinician*.69:713 – 722.
16. Cajarville C., Repetto J. L. (2005) Uso de concentrados para optimizar el aprovechamiento digestivo de las pasturas. XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay. pp 121-128.
17. Cajarville C., Aguerre M., Repetto J. L. (2006). Rumen pH, NH₃-N concentration and forage degradation kinetics of cows grazing temperate pastures and supplemented with different sources of grain. *Animal Research*. 55:511-520.
18. Cajarville C., Britos A., Caramelli A., Antúnez M., Zanoniani R., Boggiano P., Repetto J.L. (2007). El horario de corte y el tipo de metabolismo fotosintético afectan la relación azúcares/nitrógeno de las pasturas. *Archivo Latinoamericano de Producción Animal*. 15(1):408-409.
19. Cavestany D., Viñoles C., Crowe M. A., La Manna A., Mendoza A. (2009). Effect of prepartum diet on postpartum ovarian activity in Holstein cows in a pasture-base dairy system. *Animal Reproduction Science*. 114(1):1-13.
20. Calsamiglia S. (1997). Nuevas bases para la utilización de la fibra en dietas de rumiantes. XIII Curso de especialización FEDNA. 6 y 7 de noviembre de 1997, Madrid, España. 16 p.
21. Calsamiglia S., Cardozo P.W., Ferret A., Bach A. (2008). Changes in rumen microbial fermentation are due to a combined effect of type of diet and pH. *Journal of Animal Science*. 86:702-711.
22. Carábula, M. (1991) V. Pasturas cultivadas. En: Aspectos relevantes para la producción forrajera. Serie Técnica N° 19. INIA Treinta y Tres. p 28-33.
23. Caramelli A., Antúnez M., Britos A., Zanoniani R., Repetto J.L., Boggiano P., Cajarville C. (2008). Efecto del horario de corte sobre la producción de gas in vitro de pasturas. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp 265-266.
24. Carter, R. R; Grovum, W. L. (1990). A review of the physiological significance of hypertonic body fluids on feed intake and ruminal function: salivation, motility, and microbes. *Journal of Animal Science* 68(9):2811-2832. Cerrato-Sánchez M., Calsamiglia S., Ferret A. (2007). Effects of time at suboptimal pH on rumen fermentation in a dual-flow continuous culture system. *Journal of Dairy Science*. 90:1486-1492.
25. Chase C. C., Hibberd C. A. (1987). Utilisation of low-quality native grass hay by beef cows fed increasing quantities of corn grain. *Journal of Animal Science*. 65:557-566.

26. Chase C. C., Hibberd C. A. (1989). Effect of level and frequency of maize supplementation on the utilization of low-quality grass hay by beef cows. *Animal Feed Science and Technology*. 24:129-139.
27. Chilibroste, P. (2015) Carga o Productividad individual? ¿Pasto o concentrado?: mitos y realidades en la intensificación de los sistemas de producción de leche en Uruguay. XLIII Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, pp 158-162.
28. Church D. C. (1974). Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes. Zaragoza. Acribia. 483 p.
29. Clark J. H., Klusmeyer T. H., Cameron M. R. (1992). Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 75:2304-2323.
30. De Vries T. J., von Keyserlingk M. A. G., Beauchemin K. A. (2005) Frequency of feed delivery affects the behavior of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 88:3553-3562.
31. Dehority B. A. (1973). Hemicellulose degradation by rumen bacteria. *Federation Proceedings*. 32:1819-1825.
32. Dewhurst R. J., Davies D. R., Merry R. J. (2000). Microbial protein supply in the rumen. *Animal Feed Science and Technology*. 85:1-2
33. Dhiman T. R., Zaman M. S., Mac Queen I. S., Boman R. L. (2002). Influence of corn processing and frequency of feeding on cow performance. *Journal of Dairy Science*. 85:217-226.
34. Dixon R. M., Stockdale C. R. (1999). Associative effects between forages and grains: consequences for feed utilization. *Crop and Pasture Science* 50(5):757-774.
35. Delagarde R., Peyraud J.L., Delaby L. (1999). Influence of carbohydrate or protein supplementation on intake, behavior and digestion in dairy cows strip-grazing low nitrogen fertilized perennial ryegrass. *Annals de Zootechnie*. 48:81-96.
36. Durán H. (1996). Sistema 1: Alta producción de leche por hectárea. I. Resultados productivos de los ejercicios 1992-93-94. *Jornadas de Producción Animal: Lechería y Pasturas. Series de Actividades de Difusión N° 100. INIA*. pp 1-15.
37. Elizalde J. C., Santini F. J. (1992). Factores nutricionales que limitan las ganancias de peso en bovinos durante el período otoño-invierno. *Boletín Técnico, EEA INTA Balcarce*, 104:1-27.
38. Elizalde J. C., Merchen N. R., Faulkner D. B. (1999). Supplemental cracked corn for steers fed fresh alfalfa: I. Effects on digestion of organic matter, fiber, and starch. *Journal of Animal Science*. 77:457-466.
39. Farenzena R., Kozloski G. V., Mezzomo M. P., Fluck A. C. (2014). Forage degradability, rumen bacterial adherence and fibrolytic enzyme activity in vitro: effect of pH or glucose concentration. *The Journal of Agricultural Science*. 152:325-332.

40. Fondevila M. (1998). Procesos implicados en la digestión microbiana de los forrajes de baja calidad. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 15(1):11.
41. France J., Siddons R. C. (1993). Volatile fatty acid production. En: J.M. Forbes, J. France. (Eds.) *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*, Oxford. CAB. pp. 107-121.
42. France J., Dijkstra J. (2005). Volatile fatty acid production. En: J. Dijkstra, J.M. Forbes, J. France (Eds.) *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism*. 2nd. Wallingford. CABI. pp 157-176.
43. Forbes, J.M. (2007). Diet digestibility, energy concentration and supplementation of forages. En: Forbes J.M. (2007). *Voluntary food intake and diet selection in farm animals*. Wallingford. CAB. pp.219-242.
44. García S. C., Santini F. J., Elizalde J. C. (2000). Sites of digestion and bacterial protein synthesis in dairy heifers fed fresh oats with or without corn or barley grain. *Journal of Dairy Science*. 83:746-755.
45. Gibson J. P. (1981). The effects of feedings frequency on the growth and efficiency of food utilization of ruminants: an analysis of published results. *Animal Production*. 32:275-283.
46. Grainger C., Mathews G. L. (1989). Positive relation between substitution rate and pasture allowance for cows receiving concentrates. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 29:355-360.
47. Grant R. J., Mertens D. R. (1992). Influence of buffer and raw corn starch addition on in vitro fiber digestion kinetics. *Journal of Dairy Science*. 73:1823-1833.
48. Henning, P. H., Steyn, D. G., Meissner, H. H. (1993). Effect of synchronization of energy and nitrogen supply on ruminal characteristics and microbial growth. *Journal of Animal Science*. 71:9:2516-2528.
49. Herrera-Saldana R., Gomez-Alarcon R., Torabi M., Huber J.T. (1990). Influence of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis. *Journal of Dairy Science*. 73:142-148.
50. Hodgson J., Brookes I. M. (1999). Nutrition of grazing animals. En: White, J.; Hodgson, J. (Eds.) *New Zealand pastures and crop sciences*. New York: Oxford University. pp.117-132.
51. Hoover W. H. (1986) Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *Journal of Dairy Science*. 69:2755-2766.
52. Hungate R. E. (1966). *The rumen and its microbes*. NY Academic Press. 533 p.
53. Jung H. G., Allen M. S. (1995). Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *Journal of Animal Science*. 73:2774-2790.
54. Jung H. G., Deetz D. A. (1993). Cell wall lignification and degradability. En: Jung H. G., Buxton D. R., Hatfield R. D., Ralph J. (Eds). *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*. Madison. ASA-CSSA-SSSA. p 315-346.

55. Kaufmann W. (1976). Influence of the composition of the ration and the feeding frequency on pH-regulation in the rumen and on feed intake in ruminants. *Livestock Production Science*. 3:103-114
56. Kaufmann W., Hagemeister H., Dirksen G. (1980) Adaptation to changes in dietary composition, level and frequency of feeding. En: Ruckebusch Y., Thivend P. *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*. Westport, AVI. pp. 587-602.
57. Kamra D. N. (2005). Rumen microbial ecosystem. *Current Science*. 89:124-135.
58. Kozloski G.V. (2011). *Bioquímica dos ruminantes*. 3a. ed. Santa Maria. Ed. UFSM, 214 p.
59. Krause K. M., Oetzel G. R. (2006). Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Animal Feed Science and Technology* 126:215-236.
60. La Manna A., Fernández E., Mieres J., Banchemo G., Vaz Martins D. (2005). Frecuencia de alimentación: Una estrategia de manejo. *Jornada Producción Animal Intensiva. Serie Actividades de Difusión N° 406*. INIA La Estanzuela. p 47-57.
61. Lange A. (1980). Suplementación de pasturas para la producción de carnes. *Revista CREA*. 58:8-15.
62. Leibholz J., Kellaway R. C. (1984). The utilisation of low quality roughages.1. The role of nitrogen and energy supplements. *Australian Meat Research Committee, Review No. 48*, Sydney. pp 1-21.
63. McDonald P., Edwards R. A., Greenhalgh J. F. D., Morgan C. A. (2006). *Nutrición animal*. 6a ed. Zaragoza. Ed. Acribia, 581 p.
64. McEvoy M., Kennedy E., Murphy J. P., Boland T. M., Delaby L., O'Donovan M. (2008). The effect of herbage allowance and concentrate supplementation on milk production performance and dry matter intake of spring-calving dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*. 91(3):1258-1269.
65. Meijls J. A. C., Hoekstra J. A. (1984). Concentrate supplementation of grazing dairy cows. *Grass and Forage Science*. 39:59-66.
66. Meikle A., Kulcsar M., Chilliard Y., Febel H., Delavaud C., Cavestany D., Chilbroste P. (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction*. 127(6):727-737.
67. Mertens, D. R. (1987). Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. *Journal of Dairy Science*. 64:1548-1558.
68. Mertens D. R. (2003). Challenges in measuring insoluble dietary fiber. *Journal of Animal Science*. 81:3233-3249.
69. Milne J. A., Hodgson J. G., Thompson R., Souter W. G., Barthram G. T. (1982). The diet ingested by sheep grazing swards differing in white clover and perennial ryegrass content. *Grass and Forage Science*. 37:209-218.

70. Montossi F., Soares de Lima J. M. (2014). Pasturas y suplementos para una ganadería de precisión. "Estrategias de intensificación ganadera" Seminario de actualización técnica. INIA Trienta y Tres. 71 p.
71. Moore J. E., Brant M. H., Kunkle W. E., Hopkins D. I. (1999) Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility, and animal performance. *Journal of Animal Science*. 77:122-135.
72. Mould F. L., Ørskov E. R. (1983). Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in sacco, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate. *Animal Feed Science and Technology*. 10(1):1-14.
73. National Research Council (NRC). (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle 7^a Ed. Washington. National Academy Press. 381 p.
74. Nolan J.V., Dobos R.C. (2005). Nitrogen Transactions in ruminants. En: J. Dijkstra, J.M. Forbes, J. France (Eds.) *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism 2a*. Wallingford. CABI. pp 177-206.
75. Opatpatanakit Y., Kellaway R. C., Lean I. J., Annison G., Kirby A. (1995). Effects of cereal grains on fibre digestion *in vivo*. *Australian Journal of Agricultural Research*. 46:403-413.
76. Ørskov E. R. (1992). Protein Nutrition in Ruminants 2a Ed. NY Academic Press. 160 p.
77. Ørskov E. R. (1994). Recent advances in understanding of microbial transformation in ruminants. *Livestock Production Science*. 39(1):53-60.
78. Owens F. N., Goetsch A. L. (1988). Fermentación ruminal. En: Church C. D. (Ed.). *El rumiante, fisiología digestiva y nutrición*. Zaragoza. Acribia. 483 p.
79. Paterson J. A., Belyea R. L., Bowman J. P., Kerley M. S., Williamscol J. E. (1994). The impact of forage quality and supplementation regimen on ruminant animal intake and performance. En: Fahey, JR., *Forage quality, evaluation, and utilization*. Madison: ASA, WI. pp. 564-612.
80. Pereira G., Soca P. (2000). Aspectos relevantes de la cría vacuna en Uruguay. *Anales en Foro "Organización de la Cría Vacuna"* 12-15 de octubre 1999. Instituto Plan Agropecuario. San Gregorio de Polanco. Tacuarembó. Uruguay.
81. Pérez-Ruchel A. (2006). Ph, amoníaco, ácidos grasos volátiles y producción de proteína microbiana en el rumen de corderos, según el horario de corte de la pastura consumida. Tesis de Grado, Facultad de Veterinaria. Udelar. 36 p.
82. Pérez-Ruchel A. (2010) Tiempo y forma de acceso al forraje y uso de buffers o levaduras: efecto sobre el aprovechamiento digestivo de la dieta en ovinos. Tesis de Maestría, Facultad de Veterinaria. Udelar. 66 p.
83. Pérez-Ruchel A., Repetto J. L., Cajarville C. (2013). Suitability of live yeast addition to alleviate the adverse effects due to the restriction of the time of access to feed in sheep fed only pasture. *The Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 97:1043-1050.

84. Peyraud J. L., Delaby L. (2001). Ideal concentrate feeds for grazing dairy cows responses to supplementation in interaction with grazing management and grass quality. En: Garnsworthy J. y Wiseman P. C., Recent Advances in Animal Nutrition (eds). Nottingham. Nottingham University Press, pp. 203-208.
85. Pigurina G., Brito G., Pittaluga O., Scaglia G., Risso D. F., Berretta E. J. (1997). Suplementación de la recría en vacunos. Suplementación estratégica de la cría y recría ovina y vacuna. INIA Serie Actividades de Difusión; 129. Tacuarembó, Uruguay. INIA. pp. 1-6.
86. Pulido R. G., Muñoz R., Lemarie P., Wittwer F., Orellana P., Waghorn G. C. (2009). Impact of increasing grain feeding frequency on production of dairy cows grazing pasture. *Livestock Science*. 125:109-114.
87. Quintans G., Vaz Martins D., Carriquiry E. (1993). Efecto de la suplementación invernal sobre el comportamiento de terneras. *Campo Natural: Estrategia Invernal Manejo y Suplementación. Resultados Experimentales*. INIA Treinta y Tres. p 35-53.
88. Quintans G. (1994). Suplementación de terneras y vaquillonas con afrechillo de arroz desgrasado. *Bovinos para Carne: Avances en Suplementación de la Recría e Invernada Intensiva*. Serie Actividades de Difusión 34. INIA Treinta y Tres. pp 13-21.
89. Quintans G., Vaz Martins, D. (1994). Efecto de diferentes fuentes de suplemento sobre el comportamiento de terneras. *Bovinos para Carne: Avances en la Suplementación de la Recría e Invernada Intensiva*. Serie Actividades de Difusión N° 34. INIA Treinta y Tres. pp. 8-12.
90. Quintans G., Pigurina G., Paiva N. (1999). Rodeo de Cría. Alternativas de Manejo para la Zona Este. *Producción Animal. Unidad Experimental Palo a Pique*. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Actividades de Difusión 195. INIA Treinta y Tres. Uruguay. pp 1-23
91. Quintans G. (2014). La suplementación como herramienta nutricional en el manejo de un rodeo de cría. *Estrategias de intensificación ganadera*. Serie Actividades de Difusión 734. INIA Treinta y Tres. pp 1-5.
92. Reis R. B., Combs D. K. (2000). Effects of increasing levels of grain supplementation on rumen environment and lactation performance of dairy cows grazing grass-legume pasture. *Journal of Dairy Science*. 83:2888-2898.
93. Relling A., Mattioli G. (2002). *Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes*. Ed. Universidad de La Plata. Argentina. 72 p.
94. Risso D., Ahunchain M., Cibils R., Zarza A. (1997). Suplementación en invernadas del litoral. *Pasturas y producción animal en áreas de ganadería intensiva*. Serie técnica INIA N° 15:51.
95. Robaina A. C., Grainger C., Moate P., Taylor J., Stewart J. (1998). Responses to grain feeding by grazing dairy cows. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 38:541-549.

96. Robles V., González L.A., Ferret A., Manteca X., Calsamiglia S. (2007) Effects of feeding frequency on intake, ruminal fermentation, and feeding behavior in heifers fed high-concentrate diets. *Journal of Animal Science*. 85:2538-2547.
97. Russell J. B., O'Connor J. D., Fox D. G., Van Soest P. J., Sniffen C. J. (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation.(Review).*Journal of Animal Science*.70(11):3551-3561.
98. Sairanen A., Khalili H., Nousiainen J. I., Ahvenjärvi S., Huhtanen P. (2005). The effect of concentrate supplementation on nutrient flow to the omasum in dairy cows receiving freshly cut grass. *Journal of Dairy Science*. 88(4):1443-1453.
99. Satter L. D., Slyter L. L. (1974). Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro.*British Journal of Nutrition*. 32:199-208.
100. Schingoethe D. J. (1996).Balancing the amino acids needs of dairy cows.*Animal Feed and Science Technology*. 60:153-160.
101. Shabi Z., Bruckental I., Zamwell S., Tagari H., Arieli A. (1999). Effects of extrusion of grain and feeding frequency on rumen fermentation, nutrient digestibility, and milk yield and composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 82:1252-1260.
102. Shriver B. J., Hoover W. H., Sargent J. P., Crawford R. J. Jr., Thayne W. V. (1986). Fermentation of a high concentrate diet as affected by ruminal pH and digesta flow. *Journal of Dairy Science*. 69:413-419.
103. Simeone A., Beretta V. (2005). Suplementación y engorde a corral: cuándo y cómo integrarlos al sistema ganadero. *Jornada Anual de la Unidad de Producción Intensiva de Carne. Estación Experimental M. A. Cassinoni. Paysandú*. p 8-30.
104. Simeone A., Beretta V., Elizalde J. C., Baldi F., Franco J., Damonte I., Irazábal G., Reinante R., Shaw M. (2005). Uso de verdeos invernales por vacunos: manejo de la intensidad de pastoreo y la suplementación. XIX Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Octubre 2005, Tampico, México. 60 p.
105. Stern M. D., Hoover W. H. (1979). Methods for determining and factors affecting rumen microbial protein synthesis: a review. *Journal of Animal Science*. 49:1590-1603.
106. Stern M. D., Vargas G. A., Clark J. H., Firkins S. L., Huber J. T., Palmquist D. L. (1994). Evaluation of chemical and physical properties of feeds that affect protein metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*. 77(9):2762-2786.
107. Stockdale C. R., Trigg T. E. (1985). Effects of pasture allowance and level of concentrate feeding on the productivity of dairy cows in late lactation. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 25:739-744.
108. Stockdale C. R. (2000). Levels of pasture substitution when concentrates are fed to grazing dairy cows in northern Victoria. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 40:913-921.

109. Tebot I. (2008). Efecto de los suplementos ricos en energía sobre la función ruminal y el metabolismo del nitrógeno en ovinos alimentados con pasto fresco. MSc Tesis. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
110. Tebot I., Cajarville C., Repetto J. L., Cirio A. (2012). Supplementation with non-fibrous carbohydrates reduced fiber digestibility and did not improve microbial protein synthesis in sheep fed fresh forage of two nutritive values. *Animal* 6:617-623.
111. Van Houtert M. F. J. (1993). The production and metabolism of volatile fatty acids by ruminants fed roughages: A review. *Animal Feed Science and Technology*. 43:189-225.
112. Van Vuuren A. M., Van Der Koelen C. J., VroonedeBruin J. (1993). Ryegrass versus corn starch or beet pulp fiber diet effects on digestion and intestinal amino acids in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 76:2692-2700.
113. Van Soest, P.J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2a ed. NY Cornell University Press. 80 p.
114. Vaz Martins D., Fernandez E., La Manna A., Mieres J., Banchemo G. (2005). Efecto del nivel de oferta de forraje y de la suplementación con grano y heno en la performance de novillos que pastoreaban una mezcla de leguminosas y gramíneas durante el otoño. *Jornada Producción animal intensiva. Serie de actividades de difusión*. INIA. N°406:17.
115. Viglizzo E. (1981). *Dinámica de los sistemas pastoriles de producción lechera*. Bs. As. Hemisferio Sur. 125 p.