



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**Programa de Posgrados**

**EFFECTO DEL ESTADO FENOLÓGICO Y DEL ENSILAJE  
SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA, CALIDAD DE  
FERMENTACIÓN Y DEGRADABILIDAD RUMINAL DE  
PLANTA ENTERA DE AVENA GANÍFERA**

**MARÍA SOFÍA STIRLING SANTOS**

**TESIS DE MAESTRÍA EN NUTRICIÓN DE RUMIANTES**

**URUGUAY  
2016**





**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**Programa de Posgrados**

**EFFECTO DEL ESTADO FENOLÓGICO Y DEL ENSILAJE  
SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA, CALIDAD DE  
FERMENTACIÓN Y DEGRADABILIDAD RUMINAL DE  
PLANTA ENTERA DE AVENA GANÍFERA**

**MARÍA SOFÍA STIRLING SANTOS**

**Cecilia Cajarville  
Director de Tesis**

**José Luis Repetto  
Co-director de Tesis**

**Juan E. Díaz  
Co-director de Tesis**

**2016**

**INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE  
DEFENSA DE TESIS**

**2016**



**FACULTAD DE VETERINARIA  
Programa de Posgrados**

**ACTA DE APROBACIÓN DE TESIS**

**DE MAESTRÍA EN NUTRICIÓN DE RUMIANTES**

“Efecto del estado fenológico y del ensilaje sobre la composición química, calidad de fermentación y degradabilidad ruminal de planta entera de avena granífera”

---

**Por: Dra. Maria Sofia Stirling Santos**

**Directora de Tesis: Dra. Cecilia Cajarville**  
**Codirectores de Tesis: Dr. José Luis Repetto**  
**Dr. Juan E. Díaz**

**Tribunal**

**Presidente: Dra. Analía Pérez Ruchel**

**Segundo Miembro: Dr. Javier Baudracco**

**Tercer Miembro: Dr. José María Arroyo**

**Fallo del Tribunal:**

**IPAV, Libertad, San José**  
**Viernes 4 de noviembre de 2016**

*A mis abuelos y a mis padres*

## **AGRADECIMIENTOS**

A Cecilia Cajarville y José Luis Repetto, por permitirme formar parte de su equipo, por guiarme y por confiar en mí.

A Juan Díaz y Marcelo Pla por haberme abierto las puertas de INIA La Estanzuela.

A mis compañeros de los Departamentos de Nutrición y Bovinos de Facultad de Veterinaria, Analía Pérez-Ruchel, Alejandro Britos, Sebastián Brambillasca, Germán Antúnez, Álvaro Santana, Alejandro Mendoza y Carolina Fiol, por el tiempo compartido, por su ayuda en la realización de técnicas de laboratorio y en el análisis de datos.

A los Tesistas de grado, Alberto Beltrán, Fabián Bernardi, Luis Geymonat, Patricio Madrugá, Matías Sosa y Joaquín Benkendorf, por su ayuda y por los buenos momentos compartidos.

A los pasantes Camila Antunes y Anderson Moura, Florencia Damboriarena, Agustín Chiesa, Agustín Prieto y a mi hermana Jimena, por su colaboración durante los experimentos.

A mis compañeros estudiantes de posgrado, Sebastián Basantes, Sebastián de Trinidad, Alsiane Capelesso, Ana Rabaza, Claudio Pozo y Gonzalo Fernández por su amistad y por haber compartido esta etapa de nuestras vidas.

A todos los funcionarios del Campo Experimental N°2 de Libertad y a todo el equipo de Lechería y Cultivos de INIA La Estanzuela, por su disposición y ayuda en los trabajos de campo.

A los integrantes del Laboratorio de Colaveco (Cooperativa Laboratorio Veterinario de Colonia) y del Laboratorio de Bromatología y Nutrición de Rumiantes (LABRUMEN) de la Universidad Federal de Santa María, por su ayuda en la realización de análisis.

A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación por la beca para la realización de esta Maestría (POS\_NAC\_2013\_1\_11406) y el financiamiento del proyecto a través del Fondo María Viñas (FMV\_3\_2013\_1\_100661).

A mis padres, a mis hermanas, por su apoyo en todo momento.

A Marcelo por su cariño.

A todos ustedes, ¡muchas gracias!

# **INFORME DEL TRIBUNAL**



## INDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	1
SUMMARY .....	2
1. INTRODUCCIÓN .....	3
1.1. Producción lechera en Uruguay.....	3
1.2. Ensilaje de planta entera de cereales de invierno .....	3
2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS .....	5
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS .....	7
3.1. Planteamiento del problema .....	7
3.2. Hipótesis .....	8
3.3. Objetivo general .....	8
3.4. Objetivos específicos .....	8
4. ESTRATEGIA DE LA INVESTIGACIÓN .....	9
5. MATERIALES Y MÉTODOS .....	9
5.1. Implantación, cosecha y ensilaje del cultivo .....	9
5.1.1. Implantación del cultivo, suelo y clima .....	9
5.1.2. Cosecha y ensilaje .....	10
5.2. Mediciones y análisis .....	11
5.2.1. Análisis químicos .....	11
5.2.2. Calidad de fermentación y pérdidas .....	11
5.2.3. Producción de gas <i>in vitro</i> .....	11
5.2.4. Degradabilidad ruminal <i>in situ</i> .....	12
5.3. Análisis estadístico .....	13
6. RESULTADOS.....	14
6.1. Composición química.....	14
6.2. Calidad de fermentación y pérdidas .....	17
6.3. Producción de gas <i>in vitro</i> .....	17
6.4. Degradabilidad ruminal <i>in situ</i> .....	18
7. DISCUSIÓN .....	22
7.1. Efecto del estado fenológico .....	22
7.2. Efecto del ensilaje .....	25
8. CONCLUSIONES E IMPLICANCIAS .....	31
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

<b>Cuadro I.</b> Temperatura media máxima y mínima (°C) y promedio de precipitación acumulada (mm) durante el período experimental (junio-noviembre). .....	9
<b>Cuadro II.</b> Características agronómicas del cultivo en los seis estados fenológicos (Z45-Z91). .....	10
<b>Cuadro III.</b> Composición química del forraje fresco y ensilado en los seis estados fenológicos (Z45-Z91). .....	15
<b>Cuadro IV.</b> Calidad de fermentación y pérdidas del ensilaje en los seis estados fenológicos (Z45-Z91). .....	17
<b>Cuadro V.</b> Parámetros de producción de gas <i>in vitro</i> del forraje fresco y del ensilaje en los seis estados fenológicos (Z45-Z91). .....	19
<b>Cuadro VI.</b> Parámetros de degradabilidad ruminal <i>in situ</i> de la MS y FND en los seis estados fenológicos (Z45-Z91). .....	20
<b>Figura 1.</b> Composición química del forraje fresco (línea continua y círculos; polinómica orden 2) y ensilaje (línea punteada y rombos; polinómica orden 2) en los seis estados fenológicos expresados en días desde la siembra. ....	16
<b>Figura 2.</b> Degradabilidad efectiva de la materia seca (DE06 MS) y de la FND (DE06 FND) a una tasa de pasaje de 0,06 del forraje fresco (línea continua y círculos; polinómica orden 2) y ensilaje (línea punteada y rombos; polinómica orden 2) en los seis estados fenológicos expresados en días desde la siembra. ....	21

## LISTA DE ABREVIATURAS

a:	Fracción soluble en el rumen
A:	Producción potencial de gas del total de la MS incubada (mL/g MSi)
AGV:	Ácidos grasos volátiles
NIDA:	Nitrógeno insoluble en detergente ácido
AS:	Azúcares solubles
b:	Fracción no soluble potencialmente degradable en rumen
c:	Fracción indegradable en rumen
CB:	Capacidad buffer
CNF:	Carbohidratos no fibrosos
DE:	Degradabilidad efectiva
E:	Ensilaje
FAD:	Fibra ácido detergente
FND:	Fibra neutro detergente
FF:	Forraje fresco
HC:	Hemicelulosa
KD:	Tasa fraccional de producción de gas (/h)
kd:	Tasa fraccional de degradación de “b” (/h).
L:	Tiempo de latencia (h)
MF:	Materia fresca
MO:	Materia orgánica
MS:	Materia seca
N:	Nitrógeno
NIDN:	Nitrógeno insoluble en detergente neutro
PB:	Proteína bruta
PS:	Proteína soluble
PV:	Peso vivo

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto del estado fenológico y del ensilaje sobre la composición química, la calidad de fermentación, la producción de gas *in vitro* y la degradabilidad ruminal *in situ* de la planta entera de avena granífera *Avena sativa* var. Cantara (LEA 1). La avena se cosechó y ensiló en seis estados fenológicos: panoja embuchada, floración, grano acuoso, lechoso, pastoso y duro (*i.e.*: estados fenológicos Z45, 59, 69, 73, 83, y 91 respectivamente). Se trabajó en un diseño de bloques completos al azar con tres réplicas por estado fenológico. Se realizaron 9 microsilos por tratamiento los cuales se muestrearon antes y después del ensilaje. Sobre las muestras de forraje fresco y ensilaje se evaluó la composición química, producción de gas y degradabilidad ruminal de la materia seca (MS) y fibras. En el ensilaje se evaluaron las pérdidas por efluente y calidad de fermentación. El cultivo cosechado en estados fenológicos tempranos (Z45-59) se caracterizó por presentar alto contenido de PB y AS y bajo nivel de lignina, FND y FAD, pero bajo rendimiento de MS. Se alcanzó una buena compactación del forraje y fermentación gracias al bajo contenido de MS y alto nivel de AS, pero con elevada producción de efluente. El aprovechamiento ruminal fue elevado, con alta producción potencial de gas, velocidad de degradación y degradabilidad efectiva de la MS y FND. El forraje cosechado entre grano acuoso y lechoso (Z69-73), se caracterizó por presentar niveles intermedios de MS, AS, PB y lignina, con la desventaja de alto contenido de FND y FAD y bajo contenido de almidón. El ensilaje alcanzó buena compactación y fermentación y baja producción de efluente. En estos estados fenológicos se produjo un descenso importante de la fermentación *in vitro* y degradabilidad ruminal *in situ*. El forraje cosechado en grano pastoso y duro (Z83-91) presentó elevado rendimiento de MS, almidón y lignina, y bajo nivel de fibra, PB y AS. Esto dio lugar a una mala compactación y fermentación del ensilaje y nula producción de efluente. La degradabilidad ruminal se estabilizó gracias al aporte de almidón y el menor contenido de fibra. El ensilaje provocó una reducción de la calidad nutritiva del forraje y su aprovechamiento ruminal, siendo este impacto de menor magnitud que el efecto del estado fenológico, pudiendo paliarse con el uso de diferentes tecnologías. El estado fenológico impactó fuertemente sobre la composición química, la calidad de fermentación y la fermentación ruminal. El conocimiento de los cambios que ocurren a lo largo de los estados fenológicos de *Avena sativa* var. Cantara (LEA 1) permitirá desarrollar tecnologías apropiadas para cosechar el cultivo en el momento deseado y obtener una reserva forrajera de buena calidad.

Palabras clave: *ensilaje, estado fenológico, Avena sativa, degradabilidad ruminal, fermentación.*

## SUMMARY

This study evaluated the effects of growth stage and ensiling on chemical composition, conservation quality, *in vitro* gas production and *in situ* rumen degradability of whole-crop grain oats *Avena sativa* cv. Cantara (LEA 1). Oats were harvested and ensiled at boot, heading, water ripe, early milk, early dough and grain ripe stages of growth (*i.e.*: Z45, 59, 69, 73, 83, and 91 respectively). Field plots were arranged in a complete randomized design with three replicate paddocks per growth stage. Nine mini-silos were filled per treatment and sampled before and after ensiling. Chemical composition, gas production and ruminal degradability of dry matter (DM) and fibre were assessed from fresh and ensiled forage. Effluent losses and conservation quality were assessed from silage samples. Whole crop oats harvested at early stages of growth (Z45-59) were characterized by high CP, WSC and low lignin, NDF and ADF content but low DM yield. The low DM and high WSC content lead to an adequate forage compaction and fermentation, but with high effluent production. Ruminal fermentation was high, with high levels of potential gas production, degradation rates and effective degradability of DM and NDF. Oats harvested between water ripe and early milk (Z69-73), had intermediate levels of DM, WSC, CP and lignin but with high content of NDF and ADF and still low content of starch. At these stages, forage was properly compacted and achieved an adequate fermentation with low effluent production. *In situ* and *in vitro* ruminal degradation decreased sharply at these stages of growth. Forage harvested at soft dough and grain ripe stages of growth (Z83-91) presented high DM yield, starch and lignin and low fibre, CP and WSC content. The high DM content and low levels of WSC lead to a poor forage compaction and silage fermentation with no effluent production. At these mature stages of growth the decrease of ruminal fermentation due to lignin levels, was compensated by high starch and low fibre content. Ensiling reduced forage nutritive value and ruminal fermentation. However this reduction had less impact in comparison with the effect of growth stage, and could be mitigated by the use of different technologies. Growth stage strongly influenced chemical composition, silage fermentation and ruminal degradation parameters. Understanding the changes that occur across *Avena sativa* cv. Cantara (LEA 1) stages of growth will allow to develop accurate technologies in order to harvest the crop at the desired moment and to achieve a good quality silage.

Key words: *silage, growth stage, Avena sativa, rumen degradability, fermentation*

# 1. INTRODUCCIÓN

## *1.1. Producción lechera en Uruguay*

La alimentación de los sistemas de producción de leche de Uruguay se ha caracterizado tradicionalmente por el pastoreo de forrajes templados, en conjunto con la suplementación de concentrados y reservas forrajeras. En las últimas décadas la lechería en nuestro país ha sufrido un proceso de intensificación, con tasas de crecimiento superiores al 6% anual (DIEA, 2015). Con aproximadamente el mismo número de vacas y menos superficie lechera, este crecimiento se ha producido gracias a aumentos en la productividad, tanto individual (según DIEA, la producción en litros anuales/vaca masa aumentó un 36% de 2006 a 2013) como por hectárea. Así pues, la estrategia de intensificación se ha basado fundamentalmente en el incremento de concentrados en la dieta (INALE, 2014), mientras que la cosecha directa de forraje por parte de los animales se ha mantenido sin cambios significativos (Chilibroste, 2015). Este incremento en el uso de concentrados, el cual fue del 311% en el período comprendido entre 2001-2015, fue acompañado de mejores prácticas de alimentación, incluyendo el balanceo nutricional de dietas, instalaciones de suministro, dietas mezcladas, etc. (Fariña, 2016). Por otro lado, los sistemas más intensivos de producción de leche cosecharon más forraje por hectárea que los sistemas menos intensivos, y también utilizaron niveles más altos de suplementación por hectárea (reservas y concentrados) (Chilibroste, 2015). Estos datos muestran que el aumento de productividad se basó fundamentalmente en el agregado de concentrados en la dieta y no en el incremento de la producción de forraje/ha dentro del sistema.

La producción y utilización eficiente del forraje dentro del sistema constituye el eje de la rentabilidad del negocio y conduce a disminuir los costos de la producción de leche en comparación con la compra de forraje o de granos (Chapman et al., 2008a). Entendiendo la competitividad en el uso de la tierra como la capacidad para producir y utilizar forraje de calidad dentro del sistema para convertir en leche (Fariña, 2016) se deduce que en la última década las empresas lecheras no mejoraron su competitividad en el uso del recurso tierra. Esto se agrava si se considera el costo de la tierra, el cual aumentó en términos relativos 409% entre los años 2000 y 2014 (DIEA, 2015).

Por lo tanto, se plantea que el crecimiento futuro de la producción lechera deberá recaer en incrementar la producción de leche por unidad de tierra aumentando la producción y utilización de forraje dentro del sistema, tanto para pastoreo directo como para la confección de reservas forrajeras. Para ello, es necesario el estudio de forrajes y cultivos alternativos a los utilizados comúnmente y la generación de información con el fin de optimizar el manejo de los mismos.

## *1.2. Ensilaje de planta entera de cereales de invierno*

En este contexto, los ensilajes han tenido un papel importante en el proceso de intensificación y constituyen junto con el forraje de cosecha directa, el camino de intensificación rentable para nuestros sistemas lecheros. En cuanto a la naturaleza del ensilaje elaborado en los sistemas lecheros, un 72% se confecciona a partir de cultivos de verano (de los cuales 67% es maíz y 31% sorgo), mientras que el 28% restante está constituido por “silopack”, ensilaje de pradera y cultivos de invierno.

Por otro lado, solo un 20% del área de rotación de invierno se destina a cultivos de invierno (dentro de la cual se incluye el barbecho), mientras que la mayor parte se destina a praderas (57%) y el resto a verdeos de invierno (23%) (INALE, 2014). A diferencia de lo ocurrido con los ensilajes elaborados con cultivos de verano como el maíz o el sorgo, es muy poco el avance observable en relación al uso y la calidad de las reservas elaboradas con cultivos de invierno (D'Alessandro et al., 1994; Irigoyen et al., 2011; Cajarville et al., 2014). Con el objetivo de aumentar la competitividad de uso de la tierra a través del aumento de la producción de toneladas de MS/ha/año, existe gran margen para explorar en cuanto a los cultivos de invierno se refiere y aumentar así la producción de reservas forrajeras en primavera.

Los cereales de invierno pertenecen a la familia Graminae o Poaceae, subfamilia Pooidae, la cual incluye: trigo (*Triticum aestivum* L. emend. Thell.), cebada (*Hordeum vulgare* L.), avena (*Avena sativa* L.), arroz (*Secale cereale* L.) y triticale (x Triticosecale). Estos se cultivan para la producción de grano destinado a consumo humano, pero también suponen una fuente importante de energía para el ganado, pudiendo ser cosechados en forma de planta entera como fuente de forraje, ya sea en forma de heno, henolaje o ensilaje. Los cereales de invierno son óptimos para ensilar gracias a su alto nivel de azúcares solubles (AS), baja capacidad buffer (CB) y al hecho de que su contenido de humedad es fácilmente controlable (Kennelly & Weinberg, 2003). Según estos autores, el ensilaje de planta entera de estos cereales es un alimento idóneo para el ganado debido a su alto valor nutritivo y su potencial para alcanzar altos consumos de MS. Estos motivos hacen que a nivel mundial haya un interés creciente en el uso de estos cultivos como fuente de forraje para el ganado.

En Uruguay, los principales cultivos cerealeros de invierno son la cebada cervecera y el trigo, los cuales representaron en el año 2014 el 6,9 y 25,6% de la superficie total destinada a la producción de cultivos cerealeros e industriales, dentro de los que se incluyen: cebada, trigo, soja, maíz, sorgo y girasol (DIEA, 2015). Como consecuencia, su utilización se ha difundido en los sistemas de producción de leche ya sea en forma de grano o de reserva forrajera. En cuanto a la avena, su uso ha estado más extendido como cultivo forrajero, con áreas de siembra de 100 a 150 mil ha/año en los últimos años, otorgándole flexibilidad a los sistemas pastoriles al incrementar la disponibilidad de forraje en otoño-invierno mediante su siembra temprana (Condón et al., 2012). Sin embargo no existen datos del área sembrada de avena como cultivo cerealero ni antecedentes del uso de variedades graníferas destinadas al consumo animal. En los últimos años, INIA trabajó en el desarrollo de nuevas variedades cereales de invierno, en concreto de cebada cervecera, cebada forrajera y avena granífera, con el objetivo de aumentar la participación de los cereales de invierno en la secuencia de cultivos. Con ello se persigue proteger al suelo de la erosión, aportando altos volúmenes de residuos que mejoren el balance de nutrientes, además de facilitar el manejo de malezas, plagas y enfermedades, y reducir la vulnerabilidad del sistema productivo frente a adversidades climáticas o comerciales. Con el fin de aumentar la producción de forraje dentro del sistema lechero, diversificar en el uso de cultivos de invierno para la confección de ensilajes, y potenciar el uso de nuevas variedades desarrolladas en nuestro país, el presente trabajo plantea el estudio de una nueva variedad de avena granífera: *Avena sativa* var. Cantara (LEA 1) para la confección de ensilaje de planta entera (Díaz, 2012).

La calidad de cualquier ensilado depende básicamente del valor nutritivo del forraje original, el cual está determinado fundamentalmente por el estado de

madurez, y de la conservación, lo cual implica la existencia de un proceso de fermentación controlado y las condiciones de almacenamiento posteriores adecuadas (Cajarville et al., 2014). A medida que se liberan nuevas variedades, se deben realizar esfuerzos en evaluar la calidad y características de la variedad en particular como fuente de forraje, en comparación con otras variedades (Helsel & Thomas, 1987). Con el fin de generar información para la utilización de esta nueva variedad de avena en forma de ensilaje de planta entera, este trabajo evaluó el efecto del estado fenológico y del ensilaje sobre la composición química, la calidad de fermentación y el aprovechamiento ruminal de la planta entera de dicha variedad.

## 2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

El ensilaje se basa en la fermentación del forraje en anaerobiosis, con desarrollo de microorganismos productores de ácidos, conservándose el material por bajo pH (McDonald et al., 2011). Este se puede realizar a partir de una gran variedad de cultivos, en ocasiones estos se cultivan con el propósito de hacer ensilaje, mientras que otros se ensilan porque son excedentes en un momento determinado (McDonald, 1981). En el caso del cultivo de avena granífera objeto de estudio, se pretende generar información para que sea cultivada con el propósito específico de producir ensilaje de alta calidad.

Para preservar correctamente un cultivo en forma de ensilaje, la planta debe contener un adecuado nivel sustrato fermentable en forma de azúcares solubles, baja CB, un contenido de materia seca por encima de 200 g/kg, así como una estructura física que permita una rápida compactación tras la cosecha (McDonald, 1981). En este sentido, trabajos que comparan ensilaje de avena frente a otros cultivos como el maíz (Lassiter et al., 1958; Burgess et al., 1973), la alfalfa (*Medicago sativa L.*) (Khorasani et al., 1993), la cebada y el trigo (McCartney & Vaage, 1994; Wallsten et al., 2010) concluyen que en general se obtienen ensilajes de buena calidad con buenas respuestas productivas. Son numerosos los factores que afectan a la calidad del forraje, entre ellos destacan; el estado fenológico del cultivo en el momento de la cosecha, la especie vegetal, el suelo, el manejo del cultivo y el clima entre otros, siendo el estado fenológico es el factor más importante que influye sobre la composición y el valor nutritivo del forraje (Buxton & O'Kiely, 2003; McDonald et al., 2011). El avance del estado de madurez del cultivo tiene influencia sobre los diferentes componentes químicos de la planta. A medida que la planta madura, aumentan los tejidos fibrosos con el fin de soportar su estructura, aumentando por tanto los principales carbohidratos estructurales (celulosa y hemicelulosa) y la lignina, y disminuyendo el contenido de proteína (McDonald et al., 2011). Como consecuencia, se produce la disminución del contenido total de nutrientes digestibles (TND) y de la digestibilidad (Buxton & O'Kiely, 2003). En el caso de los cereales de invierno, el aumento de la madurez irá acompañado del desarrollo del grano y por tanto de un aumento considerable en el contenido de almidón. Por otro lado, el momento de cosecha es un factor importante a tener en cuenta, además de por la calidad del forraje y el rendimiento, por el impacto que presenta dentro de una rotación de cultivos ya que afectará a la siembra del cultivo predecesor, impactando en el rendimiento potencial de la rotación anual (Martini et al., 2009).

Por lo tanto, a la hora de integrar la producción de cereales de invierno dentro del sistema, uno de los factores a tener en cuenta es el equilibrio entre el rendimiento cosechable y el valor nutritivo del cultivo. En este sentido, la cosecha debería



realizarse en el momento de madurez óptimo, cuando rendimiento, calidad y características de ensilaje sean máximas, asegurando al mismo tiempo la mejor calidad nutricional y propiedades de ensilabilidad óptimas (Weinberg & Ashbell, 2003). El conocimiento de este balance es esencial para la consiguiente utilización de cultivos de invierno en sistemas lecheros (Hargreaves et al., 2009) y desde un punto de vista práctico el productor requiere de información precisa acerca del momento de cosecha para la toma de decisiones en base al objetivo productivo que se persiga. Frecuentemente se utilizan descriptores poco precisos para describir el estado de madurez de los cultivos de invierno (Buxton & O'Kiely, 2003). En este sentido, muchos trabajos describen la edad cronológica del cultivo, la cual no aporta información suficiente y dificulta la interpretación de los datos generados. Existen escalas para la descripción más precisa de los estados fenológicos, siendo la clave decimal de Zadoks et al. (1974) una de las recomendadas para cereales de invierno (Frank et al., 1997) y una de las más utilizadas hoy en día. Esta escala divide el ciclo de la planta en 10 fases de desarrollo y en 100 estados fenológicos, permitiendo la descripción exacta a lo largo de su ciclo, constituyendo un método simple para la detección del momento óptimo de cosecha de un cultivo de invierno. En este sentido, el desarrollo de los cereales de invierno acontece en varias fases desde la germinación hasta el desarrollo del grano, dentro de las cuales se identifican los diferentes estados fenológicos. El período de tiempo en el que se puede realizar la cosecha de cereales de invierno es normalmente mayor al de las pasturas, pudiendo ser cosechado en un gran rango de estados fenológicos, normalmente entre la emergencia de la panoja y el estado de grano pastoso (Wallsten et al., 2010).

Inicialmente, durante la fase que ocurre entre la elongación del tallo y embuche, la planta se caracteriza por presentar una elevada proporción de hojas, representando la vaina y lámina más del 80% del forraje total, las cuales presentan mayor valor nutritivo que los tallos (Kilcher & Troelsen, 1973; Cherney & Marten, 1982a). Debido a la elevada proporción hoja: tallo, la planta presenta bajos niveles de fibra (FND y FAD) y lignina y elevados niveles de proteína y azúcares solubles (Cherney & Marten, 1982a; Mustafa & Seguin, 2003; Contreras-Govea & Albrecht, 2006; Jacobs et al., 2009). Debido al bajo contenido de MS de la planta en esta fase del desarrollo, el rendimiento del cultivo en términos de kg MS/ha es bajo en comparación con estados fenológicos más avanzados. A continuación, cuando se produce la emergencia de la panoja y floración, aumenta la proporción de tallos debido al crecimiento de la planta y emerge la inflorescencia la cual comienza a desarrollarse (Cherney & Marten, 1982b). Como consecuencia, el principal cambio que acontece en el cultivo durante esta fase es el aumento de los componentes de la pared celular y concentración de fibras, fenómeno que ha sido reportado por numerosos trabajos que evalúan planta entera de avena (Jacobs et al., 2009; Wallsten et al., 2009) y trigo (Ashbell et al., 1997; Filya et al., 2002). Sin embargo el incremento del contenido de fibra no va acompañado aún por el aumento del contenido de almidón (Hargreaves et al., 2009; Wallsten & Martinsson, 2009). Finalmente, durante la fase final de maduración de la planta se produce el llenado del grano y la inflorescencia pasa a contribuir a la mayor parte de la MS de la planta (Cherney & Marten, 1982b). Como consecuencia de los cambios en la proporción de las diferentes estructuras de la planta, mayor proporción de tallos que de hojas y aparición de la inflorescencia, varía la composición química de la misma. Disminuye el contenido de proteína, fibra y azúcares solubles (Kilcher & Troelsen, 1973; Cherney & Marten, 1982a) y aumenta el contenido de almidón (Cherney & Marten,

1982b; Nadeau, 2007). Por otro lado, la concentración de lignina en estos estados finales de maduración de la planta alcanza su máximo debido a la elevada proporción de tallos los cuales se engrosan para sostener la estructura de la planta (Helsel & Thomas, 1987; Weinberg et al., 1991; Filya et al., 2002; Wallsten et al., 2009).

Como se mencionó anteriormente, la composición química del cultivo varía a lo largo del ciclo, lo cual tiene impacto sobre la fermentación del ensilaje y por ende sobre la calidad del producto final. En concreto, la variación del contenido de MS, azúcares solubles y la CB del cultivo a lo largo del ciclo determinará la calidad de fermentación del ensilaje. En el momento en el que comienza el llenado del grano, se produce el descenso del contenido de azúcares solubles, los cuales son sustrato de la fermentación de las bacterias lácticas. En general, los ensilajes elaborados a partir de forraje cosechado antes de grano lechoso, presentan adecuadas características de fermentación, bajo pH, y producción de ácido láctico ya sea avena (Mustafa & Seguin, 2003; Nadeau, 2007; Jacobs et al., 2009; Wallsten et al., 2009), cebada (Hargreaves et al., 2009) o trigo (Ashbell et al., 1997; Crovetto et al., 1998; Weinberg et al., 1991). En cuanto a los ensilajes de cereales de invierno elaborados a partir de grano pastoso, generalmente se observan pH superiores a 4,5 (Ashbell et al., 1997; Weinberg & Ashbell, 2003; Hargreaves et al., 2009; Jacobs et al., 2009; Wallsten et al., 2009), lo cual está asociado a elevados contenidos de MS y baja concentración de azúcares solubles.

En cuanto a la digestibilidad, numerosos trabajos reportan un descenso en la digestibilidad *in vitro* de la MS o MO a medida que madura la planta, lo cual se debe en parte a la acumulación de lignina indigestible en el tallo (Cherney & Marten, 1982b). Sin embargo, gracias al desarrollo de la inflorescencia y llenado de los granos, la digestibilidad se estabiliza y no desciende más (Kilcher & Troelsen, 1973; Cherney & Marten, 1982b). Por otro lado, la degradabilidad ruminal de la MS, FND y PC, desciende significativamente desde estados vegetativos hasta la madurez completa de la planta (Ashbell et al., 1997; Coblenz et al., 2000; Mustafa & Seguin, 2003; Coblenz & Walgenbach, 2010a).

Según el impacto del estado fenológico y de la conservación sobre la calidad del ensilaje de planta entera de avena granífera, se podrán estudiar alternativas tecnológicas para mejorar el valor de los ensilados, tal y como propusieron Repetto et al. (2005), Britos et al. (2007), Repetto et al. (2011) y Cajarville et al. (2012) quienes estudiaron posibles aditivos para mejorar la calidad de ensilajes de alfalfa y de pasturas templadas en nuestro país.

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS**

#### ***3.1. Planteamiento del problema***

El aumento de la productividad y rentabilidad del negocio lechero, se deberá alcanzar a través del aumento en la producción total de forraje dentro del sistema. Siendo el ensilaje un componente estructural de las dietas en los sistemas lecheros de Uruguay, es prioridad el estudio de nuevas especies y variedades de cultivos que contribuyan a maximizar dicha productividad. En línea con esto, y con el fin de diversificar y maximizar la eficiencia en la producción, cosecha y calidad de los ensilajes confeccionados, el presente trabajo plantea el estudio de una nueva variedad de avena granífera: *Avena sativa* variedad Cantara (LEA 1).

Cantara es una nueva variedad de avena seleccionada por el grupo de mejoramiento genético de cebada y avena granífera de INIA La Estanzuela. La misma se encuentra en el Registro Nacional de Cultivares y en el Registro de Propiedad de Cultivares de INASE desde el año 2014 y ha sido licenciada a la empresa semillera Agronegocios del Plata (ADP). Se trata de una variedad seleccionada para producción de grano, de ciclo intermedio, cuya fecha óptima de siembra se extiende de principios de mayo a fines de junio. Es una variedad que se caracteriza por presentar rendimientos de grano muy altos y estables (promedio ensayos 2010-2011: 5762 kg/ha), excelente caña, altura adecuada y sin riesgo de vuelco (Díaz, 2012). Por su alta producción de biomasa, combinando fibra y grano, resulta una alternativa muy interesante para la confección de ensilaje de planta entera.

El estado fenológico es el factor que mayor impacto tiene sobre el rendimiento y composición química del cultivo, siendo necesario evaluar cómo evolucionan los componentes a lo largo del ciclo de esta variedad, con el fin de identificar las ventajas y dificultades específicas de cada momento. Los cambios en la composición química del cultivo determinarán el aprovechamiento ruminal del ensilaje elaborado y por tanto la calidad nutricional del mismo. En este sentido, son muy escasos los trabajos que evalúan cómo impacta el estado fenológico sobre el aprovechamiento ruminal del ensilaje. Por otro lado, resulta interesante evaluar el impacto que puede tener el proceso de ensilaje sobre la calidad del forraje original y como este puede variar según el estado fenológico del cultivo en el momento de cosecha.

### **3.2. Hipótesis**

El estado fenológico tendrá una influencia directa sobre la composición química, las características de fermentación y el aprovechamiento ruminal del forraje fresco y del ensilaje de planta entera de la *Avena sativa* variedad Cantara (LEA 1) en el momento de la cosecha.

El proceso de ensilaje provocará una reducción del valor nutritivo del forraje original, siendo este efecto dependiente del estado fenológico en que se realice el ensilaje.

### **3.3. Objetivo general**

Evaluar el efecto del estado fenológico y del ensilaje sobre la composición química, la conservación y el aprovechamiento ruminal de planta entera de *Avena sativa* variedad Cantara (LEA 1).

### **3.4. Objetivos específicos**

1. Evaluar el efecto del estado fenológico de *Avena sativa* variedad Cantara sobre:
  - La composición química del forraje fresco y del ensilaje.
  - La producción de gas *in vitro* y la degradabilidad ruminal *in situ* del forraje fresco y del ensilaje.
  - Las características fermentativas y las pérdidas de nutrientes del ensilaje.
2. Evaluar el efecto del ensilaje de *Avena sativa* variedad Cantara sobre:

- La composición química
- La producción de gas *in vitro* y la degradabilidad ruminal *in situ*

#### 4. ESTRATEGIA DE LA INVESTIGACIÓN

Para contrastar la hipótesis y cumplir con los objetivos planteados el trabajo experimental se realizó en dos etapas. La primera etapa consistió en la implantación, cosecha y ensilaje del cultivo, lo cual se realizó en la Unidad de Lechería de INIA La Estanzuela (Colonia, Uruguay, 34°20'S, 57°41'O) entre los meses de junio y noviembre de 2013. La segunda etapa consistió en el procesamiento y análisis de las muestras de forraje fresco y ensilaje obtenidas en cada estado fenológico. Se realizaron análisis químicos, de calidad de fermentación y para evaluar el aprovechamiento ruminal se realizaron ensayos de producción de gas *in vitro* y degradabilidad ruminal *in situ*. Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal del Instituto de Producción Animal de Facultad de Veterinaria (San José, Uruguay, 34°41'S, 56°32'O) durante los años 2014 y 2015. Todos los procedimientos experimentales cumplieron con los principios bioéticos y protocolos de supervisión propuestos por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA).

#### 5. MATERIALES Y MÉTODOS

##### 5.1. *Implantación, cosecha y ensilaje del cultivo*

##### 5.1.1. *Implantación del cultivo, suelo y clima*

La implantación del cultivo de avena se llevó a cabo en la Unidad de Lechería de la estación experimental de INIA La Estanzuela, (Colonia, Uruguay, 34°20'S, 57°41'O), sobre un suelo de tipo Brunosol eútrico típico. El promedio de N-NO<sub>3</sub> fue de 14,1 µg N/g, con un pH de 6,1. El cultivo antecesor fue sorgo granífero, cosechado para grano húmedo, siendo el tiempo de barbecho de 42 días. La avena se sembró el 4 de junio de 2013 a una densidad de siembra de 100 kg/ha. Previo a la siembra se realizaron 3 aplicaciones con un herbicida no selectivo (Glifosato Roundup full®: 4 L/ha, 2 L/ha, 2 L/ha). A la siembra se fertilizó con 18 kg N/ha y 46 kg P/ha (fertilizante compuesto: 18-46-46-0). Adicionalmente se aplicaron 23 y 46 kg N/ha en forma de urea, 62 y 93 días después de la siembra respectivamente. El control de malezas y plagas se realizó con un herbicida de hoja ancha (principio activo de clorsulfurón) y un mojante y dispersante tensioactivo iónico (25 gr/ha de Glean® + 150 gr de Agral®). Los datos meteorológicos del período experimental se presentan en el Cuadro I. Las parcelas (6 x 8 m) se distribuyeron en un diseño de bloques completos al azar con tres bloques por estado fenológico.

**Cuadro I.** Temperatura media máxima y mínima (°C) y promedio de precipitación acumulada (mm) durante el período experimental (junio-noviembre).

Período	Temperatura media °C (24 h)		Promedio Precipitación Acumulada (mm)
	Máximo	Mínimo	
Junio	19,2	5,0	0,09
Julio	16,5	3,3	1,30
Agosto	17,5	4,4	1,38

Septiembre	25,3	7,0	7,05
Octubre	20,3	9,0	1,02
Noviembre	25,1	15,1	3,30

### 5.1.2. *Cosecha y ensilaje*

La avena se cosechó en seis estados fenológicos: embuche (Z45), floración completa (Z59), grano acuoso (Z69), grano lechoso (Z73), grano pastoso (Z83) y grano duro (Z91) de acuerdo a la clave decimal propuesta por Zadoks et al. (1974). La cosecha se realizó a los 125, 132, 139, 146, 161 y 170 días desde la siembra respectivamente. El corte se efectuó utilizando una segadora experimental (Honda MFC160) a 15 cm del suelo y siempre a la misma hora (13 00 h). El forraje cosechado proveniente de cada bloque, se mantuvo por separado, se picó con una picadora mecánica (Nogueira EN-9F3A) a un tamaño promedio de partícula de 2-4 cm y fue inmediatamente ensilado.

Con el fin de obtener información acerca de las características agronómicas del cultivo, se determinó la altura de la planta, el contenido de MS y el rendimiento de MS en los seis estados fenológicos (Cuadro II). La altura de la planta se registró efectuando cuatro mediciones con regla al azar en cada bloque, midiendo desde el suelo hasta la punta de la planta. Para la determinación del contenido de MS del cultivo, se tomaron muestras representativas de planta entera de avena, cortada a 15 cm del suelo de cada uno de los tres bloques y se secaron en estufa a 60°C durante 48 h. El rendimiento del cultivo (t MS/ha) se determinó cosechando el forraje presente en un área de 1,26 x 6 m a una altura de 15 cm del suelo y pesándolo con una balanza electrónica.

**Cuadro II.** Características agronómicas del cultivo en los seis estados fenológicos (Z45-Z91).

	Estado fenológico <sup>a</sup>						EEM <sup>b</sup>	P <sup>c</sup>	
	45	59	69	73	83	91		L	C
Días <sup>d</sup>	125	132	139	146	161	170			
Rendimiento (t MS/ha)	4,5	5,7	6,4	8,6	10,5	9,4	0,22	<0,01	<0,01
Altura planta (cm)	85	107	117	122	129	125	1,42	<0,01	<0,01
MS cultivo (g/kg)	144	151	178	234	362	512	4,21	<0,01	<0,01

<sup>a</sup> Estado fenológico expresado acorde a Zadoks et al. (1974).

<sup>b</sup> Error estándar de la media (n=1 por bloque, para rendimiento; n=4 por bloque, para materia seca y altura de la planta).

<sup>c</sup> Nivel de significancia del efecto lineal (L) y cuadrático (C) del estado fenológico.

<sup>d</sup> Estado fenológico expresado en días desde la siembra.

Para la elaboración de los microsilos experimentales se utilizaron baldes de plástico de 22 L (ATMA®, Montevideo, Uruguay) con tapa de cierre hermético y pico vertedor, el cual se utilizó posteriormente para la recolección de efluente. Inmediatamente después de la cosecha, el forraje picado se compactó con una prensa manual. La compactación se realizó aplicando presión manual sobre capas finas de forraje. No se añadió ningún aditivo o sustancia para mejorar la calidad del ensilaje, ni tampoco se realizó ningún tratamiento de premarchitado u oreo sobre el forraje. Los baldes fueron cerrados herméticamente, pesados y almacenados en un lugar

oscuro a temperatura ambiente. Durante el período de ensilaje se recolectó la producción diaria de efluente. A los 64 días de ensilaje los microsilos fueron pesados y abiertos.

Se elaboraron 3 microsilos experimentales por bloque, por tanto un total de 9 microsilos por estado fenológico. Se tomó una muestra de forraje fresco (FF) y de ensilaje (E) de cada microsilo antes y después de ensilar, las cuales fueron conservadas a -20°C para posteriores análisis.

## **5.2. Mediciones y análisis**

### **5.2.1. Análisis químicos**

Para realizar los análisis químicos, las muestras de forraje fresco ( $n=54$ ) y sus correspondientes silos ( $n=54$ ) se descongelaron, secaron a 60°C durante 48 horas y se molieron a 1 mm. El contenido de MS se determinó por secado en estufa a 105°C hasta peso constante (Método 7.003; AOAC, 1997). Las cenizas se determinaron mediante combustión a 600°C durante dos horas (Método 7.009; AOAC, 1997) y la proteína bruta (PB) se determinó mediante el método Kjeldahl (Método 984.13, AOAC, 1997). La fibra neutro detergente (FND; Mertens et al., 2002) y fibra ácido detergente (FAD, Método 973.18; AOAC 1997) se analizaron de forma no secuencial usando un analizador de fibra (Tecnal TE-149, Piracicaba, Sao Pablo, Brasil). Para la determinación de FND se utilizó alfa-amilasa termoestable y sulfito de sodio, y todos los resultados de fibra se expresaron excluyendo el contenido de cenizas residuales. El contenido de hemicelulosa (HC) se determinó por diferencia entre FND y FAD. La lignina se determinó mediante solubilización de la celulosa con ácido sulfúrico de acuerdo con la técnica descrita por Robertson & Van Soest (1981). Los azúcares totales solubles en etanol se determinaron mediante el método fenol-sulfúrico (Dubois et al., 1956). El contenido total de almidón se determinó mediante un método enzimático (Método 996.1; AOAC, 1997) utilizando un kit comercial (Megazyme International Ireland Ltd., Bray, Co. Ireland). El contenido de nitrógeno asociado a la fibra neutro y ácido detergente (NIDN y NIDA) se determinó según AOAC (1997), sobre los residuos de FND y FAD. El contenido de PS se determinó de acuerdo con el método descrito por Licitra et al. (1996) y la CB del forraje fresco se determinó según Jasaitis et al. (1987). Todas las muestras fueron analizadas por duplicado, aceptando coeficientes de variación entre análisis del 3 al 5% según el parámetro.

### **5.2.2. Calidad de fermentación y pérdidas**

La densidad de los silos fue calculada como la relación entre el contenido de materia fresca (kg) y el volumen del recipiente ( $m^3$ ) cuando el forraje fue introducido en el los baldes. El volumen de efluente (L/t MS) fue recolectado y registrado diariamente durante el almacenamiento. Tras 64 días de ensilaje, los baldes se abrieron y el contenido de los silos se mezcló y muestreó. Una muestra de ensilaje de cada microsilo (10 g) se homogeneizó con 100 mL de agua destilada y se midió el pH del extracto con un pHmetro digital (Cole Parmer Instrument Co., Oakton, Singapore). El incremento de proteína soluble (PS) respecto al forraje original se calculó para cada microsilo antes y después del ensilaje y se expresó en g/kg de PS.

### **5.2.3. Producción de gas in vitro**

Se determinó la producción de gas del forraje fresco y ensilado por fermentación en líquido ruminal fresco de la MS según el método propuesto por Mauricio et al. (1999). Se incubaron 3 muestras por estado fenológico (1 muestra por bloque) de forraje fresco y ensilaje. Se realizaron tres tandas consecutivas de incubación, incubándose cada muestra por triplicado. El número total de observaciones fue: 6 (estados fenológicos) x 3 (bloques) x 2 (FF y E) x 3 (réplicas, *i.e.* 3 frascos/muestra) x 3 (tandas de incubación) = 324. Se incubaron 0,5 g de muestra seca y molida a 1 mm en frascos de 125 mL con 40 mL de solución buffer (Mould et al., 2005) y 10 mL de líquido ruminal en una proporción 4:1 (v/v). El inóculo ruminal fue colectado de una vaca Holando (600 kg de peso vivo (PV)) provista de cánula ruminal y alimentada a base de pasturas naturales y con agua fresca disponible en todo momento. Inmediatamente después de la colecta, el líquido ruminal se filtró por una doble capa de paño de quesería, manteniéndose en baño maría a 39°C. Cada frasco fue purgado con CO<sub>2</sub>, cerrado con tapón de goma, precintado herméticamente e incubado inmediatamente en baño maría a 39°C durante 96 h. El volumen de gas fue registrado a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 72 y 96 h de incubación, insertando una aguja hipodérmica (0,6 mm) adherida a un transductor de presión (Cole Parmer Instrument Co.). Luego de cada medición se permitió el escape de gas acumulado. El volumen de gas (V, mL) se estimó usando la presión (P, psi) mediante la ecuación:  $V = 4,40 P + 0,09 P^2$  ( $R^2 = 0,998$ ), obtenida en una calibración previa realizada en las mismas condiciones.

Al volumen de gas generado por cada frasco en cada medición se le restó el producido por los blancos. A fin de estimar la evolución de la fermentación, el volumen de gas producido fue expresado como mL de gas producido por g de MS incubada (MSi). Para estimar la evolución de la producción de gas los datos obtenidos se ajustaron mediante el modelo exponencial simple con tiempo de latencia de Ørskov & McDonald (1979):

$$V = A (1 - e^{-KD(t-L)})$$

Dónde: “V” es el volumen de gas producido a tiempo “t” (h), “A” (mL/g MSi) es la producción potencial de gas del total de la MS incubada, “KD” (/h) la tasa fraccional de producción de gas y “L” (h) el tiempo de latencia.

#### 5.2.4. Degradabilidad ruminal in situ

Se estudió la cinética de degradación ruminal de la MS y FND del forraje fresco y ensilado en cada uno de los seis estados fenológicos. Se utilizaron 3 vacas canuladas ( $516 \pm 25$  kg PV, media  $\pm$  desvío estándar) en el saco dorsal del rumen por el método *in situ*. Los animales se alimentaron con una dieta compuesta por dos tercios de heno de moha y un tercio de concentrado (grano húmedo de maíz y harina de soja) formulada para cubrir los requerimientos de mantenimiento. La dieta total contenía en base seca 125 g/kg PB, 483 g/kg FND y 276 g/kg FAD. Se suplementaron con 100 g de núcleo vitamínico mineral/día (Zinpro®). La dieta se administró a un nivel de consumo de 70 g de MS/kg PV<sup>0.75</sup>, y el período de adaptación de las vacas a la dieta fue de 20 días.

Se realizó un pool de muestras provenientes de cada estado fenológico, con el fin de obtener una muestra por estado fenológico tanto de forraje fresco como de ensilaje. Las muestras de FF ( $n=6$ ) y E ( $n=6$ ) (7 g, secadas a 60°C hasta peso

constante y molidas a 2 mm) se introdujeron en bolsas de nylon (10 x 20 cm y 50  $\mu$ m de porosidad, ANKOM Technology Corp., Fairport, NY, USA) e incubaron en el rumen por 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 horas. La hora 0 de incubación se estableció por lavado de las muestras sin incubar. Se realizaron dos series de incubaciones en cada vaca en días diferentes acorde a Udén et al. (2012). Después de retirar las bolsas del rumen, estas se lavaron con agua corriente y se congelaron. Para el análisis del residuo de incubación, se descongelaron y lavaron manualmente bajo agua corriente y fría hasta que el agua salió clara y se secaron en estufa a 60°C durante 48 horas. Los residuos de incubación se molieron a 1 mm y se analizó FND (Mertens et al., 2002 y Método 973.18; AOAC 1997) mediante un analizador de fibra ANKOM (ANKOM Technology Corp., Fairport, NY, USA).

La desaparición de la MS se ajustó al modelo propuesto por Ørskov & McDonald (1979):  $d = a + b(1 - e^{-kdt})$ , donde “d” es el material desaparecido de la bolsa en el tiempo “t”, “a” es la fracción soluble, “b” es la fracción no soluble potencialmente degradable en rumen, “kd” (/h) es la tasa fraccional de degradación de “b”. La fracción indegradable “c” se calculó como  $1 - (a + b)$ . Para la desaparición de FND se asumió que “a” = 0, y el modelo fue:  $d = b(1 - e^{-kdt})$ . La degradabilidad efectiva (DE) de la MS se estimó como  $DE = a + (b kd) / (kd + kp)$  y para FND como:  $DE = (b kd) / (kd + kp)$ , asumiendo una tasa de salida de partículas del rumen (kp) de 0,03 /h, 0,06 /h y 0,08 /h (DE03, DE06 y DE08 respectivamente).

### 5.3. Análisis estadístico

El experimento consistió en un diseño de bloques completos al azar, con tres bloques por estado fenológico. Los datos fueron analizados mediante un modelo mixto, utilizando el procedimiento MIXED del SAS (SAS 9.0V, SAS Institute Inc., Cary, NC).

Para los datos de composición química y de producción de gas *in vitro* se analizó el efecto del estado fenológico y del ensilaje así como su interacción mediante regresiones lineales y cuadráticas, según el siguiente modelo:  $Y_{ijk} = \mu + F_i + E_j + (F * E)_{ij} + B_k + \epsilon_{ijk}$ , donde  $Y_{ijk}$  es la variable dependiente,  $\mu$  es la media global,  $F_i$  es el efecto fijo del estado fenológico ( $i = 6$  estados fenológicos),  $E_j$  es el efecto fijo del ensilaje ( $j = FF$  y  $E$ ),  $(F * E)_{ij}$  es el efecto fijo de la interacción entre estado fenológico y ensilaje,  $B_k$  es el efecto aleatorio del bloque ( $k = 3$  bloques) y  $\epsilon_{ijk}$  es el error residual. Para el análisis de los datos de producción de gas *in vitro* se promediaron los valores de las réplicas y tandas de incubación.

El efecto del estado fenológico sobre la calidad de fermentación y pérdidas del ensilaje se analizó mediante regresiones lineales y cuadráticas, según el siguiente modelo:  $Y_{ij} = \mu + F_i + B_j + \epsilon_{ij}$ , donde  $Y_{ij}$  es la variable dependiente,  $\mu$  es la media global,  $F_i$  es el efecto fijo del estado fenológico ( $i = 6$  estados fenológicos),  $B_j$  es el efecto aleatorio del bloque ( $j = 3$  bloques) y  $\epsilon_{ij}$  es el error residual.

Para el análisis de los datos de degradabilidad ruminal *in situ* de la MS y FND, se promediaron los valores de las dos series de incubación. Se incluyó el efecto aleatorio de la vaca en el siguiente modelo:  $Y_{ijk} = \mu + F_i + E_j + (F * E)_{ij} + B_k + \epsilon_{ijk}$ , donde  $Y_{ijk}$  es la variable dependiente,  $\mu$  es la media global,  $F_i$  es el efecto fijo del estado fenológico ( $i = 6$  estados fenológicos),  $E_j$  es el efecto fijo del ensilaje ( $j = FF$  y



E),  $(F * E)_{ij}$  es el efecto fijo de la interacción entre estado fenológico y ensilaje,  $B_k$  es el efecto aleatorio de la vaca ( $k = 3$  vacas) y  $\epsilon_{ijk}$  es el error residual.

Las regresiones lineales y cuadráticas se efectuaron independientemente del nivel de significancia del efecto del estado fenológico. Se aceptaron diferencias significativas entre medias cuando  $P \leq 0,05$  y se consideró una tendencia cuando  $0,05 < P \leq 0,10$ .

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Composición química

Los datos de composición química del forraje fresco y ensilado se presentan en el Cuadro III y la Figura 1. El efecto del estado fenológico fue significativo en todos los parámetros de composición química, mientras que el ensilaje afectó a algunos componentes químicos de la planta.

El contenido de MS aumentó conforme evolucionó el ciclo del cultivo (L y C;  $P < 0,01$ ), presentando el cultivo una tasa de secado promedio de 8 g/kg/día (dato no presentado). Se observó interacción entre estado fenológico y conservación, siendo el contenido de MS del ensilaje superior en los estados de floración y grano acuoso (Z59-69;  $P < 0,01$ ) e inferior en grano pastoso y duro (Z83-91;  $P < 0,01$ ) respecto al forraje fresco. El contenido de cenizas descendió (L y C;  $P < 0,01$ ) con la madurez del cultivo, tendiendo a disminuir levemente tras el proceso de ensilaje ( $P = 0,06$ ).

El contenido de PB y PS descendió a tasas decrecientes a lo largo del ciclo (L y C;  $P < 0,01$ ), siendo el promedio de descenso de PB en el forraje fresco de 1,02 g PB/kg MS/día durante el período de cosecha (45 días). No hubo efecto de la conservación sobre el contenido de PB (promedio FF: 81,17 vs. E: 81,13;  $P = 0,95$ ). Sin embargo se detectó interacción, la PB descendió en floración y grano acuoso (Z59-69;  $P < 0,01$ ) y aumentó en grano pastoso y duro (Z83-91;  $P < 0,01$ ) respecto al forraje original. El aumento de PS tras el ensilaje fue constante desde embuche a grano duro (promedio de incremento: 0,55, 0,57, 0,58, 0,52, 0,42, 0,60). El NIDN descendió tras el ensilaje en todos los estados fenológicos, mientras que el NIDA descendió entre embuche y grano acuoso. El contenido de FND y FAD presentó un efecto cuadrático y cúbico ( $P < 0,01$ ), aumentando desde embuche hasta grano acuoso-lechoso para después descender a valores cercanos a los iniciales. No se observaron grandes cambios en el contenido de fibra tras el proceso de ensilaje.

El contenido de FND tendió disminuir (promedio FF: 593.5 vs. E: 586.8;  $P = 0,09$ ), mientras que el contenido de FAD aumentó tras el ensilaje ( $P < 0,01$ ; Z73-91). La HC ascendió a tasas crecientes (L,  $P < 0,01$ ; C,  $P = 0,04$ ) a lo largo del ciclo y descendió significativamente tras el proceso de ensilaje en grano lechoso, pastoso y duro ( $P < 0,01$ ; Z73-91). La lignina no varió tras el proceso de ensilaje y aumentó (L y C;  $P < 0,01$ ) con la madurez del cultivo desde 40,3 hasta 75,6 g/kg MS (promedio FF y E; Z45-91).

La concentración de almidón aumentó a lo largo del ciclo del cultivo (L y C;  $P < 0,01$ ) y descendió tras el ensilaje ( $P < 0,01$ ; Z69-91). La concentración de AS del forraje fresco descendió (L y C;  $P < 0,01$ ) con el aumento de la madurez del cultivo y tras el proceso de ensilaje entre embuche y grano lechoso.

**Cuadro III.** Composición química del forraje fresco y ensilado en los seis estados fenológicos (Z45-Z91).

Conservación	Forraje Fresco						Ensilaje						EEM <sup>a</sup>	P <sup>b</sup>			P <sup>c</sup> Forraje Fresco		P <sup>d</sup> Ensilaje	
	45	59	69	73	83	91	45	59	69	73	83	91		F	E	F*E	L	C	L	C
Estado fenológico <sup>e</sup>																				
Días <sup>f</sup>	125	132	139	146	161	170	125	132	139	146	161	170								
MS (g/kg)	144	151	178	234	362	512	155	171	202	242	318	492	2,260	<0,01	0,96	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
<b>Composición, (g/kg MS)<sup>g</sup></b>																				
Cenizas	82	86	90	79	77	63	78	82	80	81	76	72	0,921	<0,01	0,06	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
PB	107	99	86	73	62	61	104	89	77	73	74	69	0,851	<0,01	0,95	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
PS (g/kg PB)	335	356	398	370	255	153	517	557	628	561	362	244	4,714	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
FND	537	627	661	599	568	571	539	618	655	585	576	548	4,901	<0,01	0,09	0,30	0,29	<0,01	0,07	<0,01
FAD	351	412	449	367	359	336	363	420	425	400	407	376	4,252	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,93	<0,01
HC	186	215	211	232	210	232	175	200	227	190	165	171	6,158	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,04	0,05	<0,01
Lignina	45	62	72	59	84	71	36	56	72	61	89	79	3,365	<0,01	0,97	0,39	<0,01	0,03	<0,01	0,01
NIDA	3,1	2,9	3,2	2,2	2,5	2,1	1,6	1,7	1,6	1,7	2,0	2,4	0,094	0,02	<0,01	<0,01	<0,01	0,92	<0,01	0,01
NIDN	4,3	4,4	4,3	3,5	3,8	3,2	2,2	2,2	2,1	1,8	2,0	2,2	0,086	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,81	0,50	<0,01
Almidón	26	23	28	50	183	201	34	25	7	21	123	181	1,164	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
AS	115	49	33	68	22	17	19	12	17	14	15	8	1,463	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,01	<0,01	0,33

<sup>a</sup> Error estándar de la media (n=9 por estado fenológico, n=3 por bloque).

<sup>b</sup> Nivel de significancia del estado fenológico (F), del ensilaje (E) y de la interacción entre estado fenológico y ensilaje (F\*E).

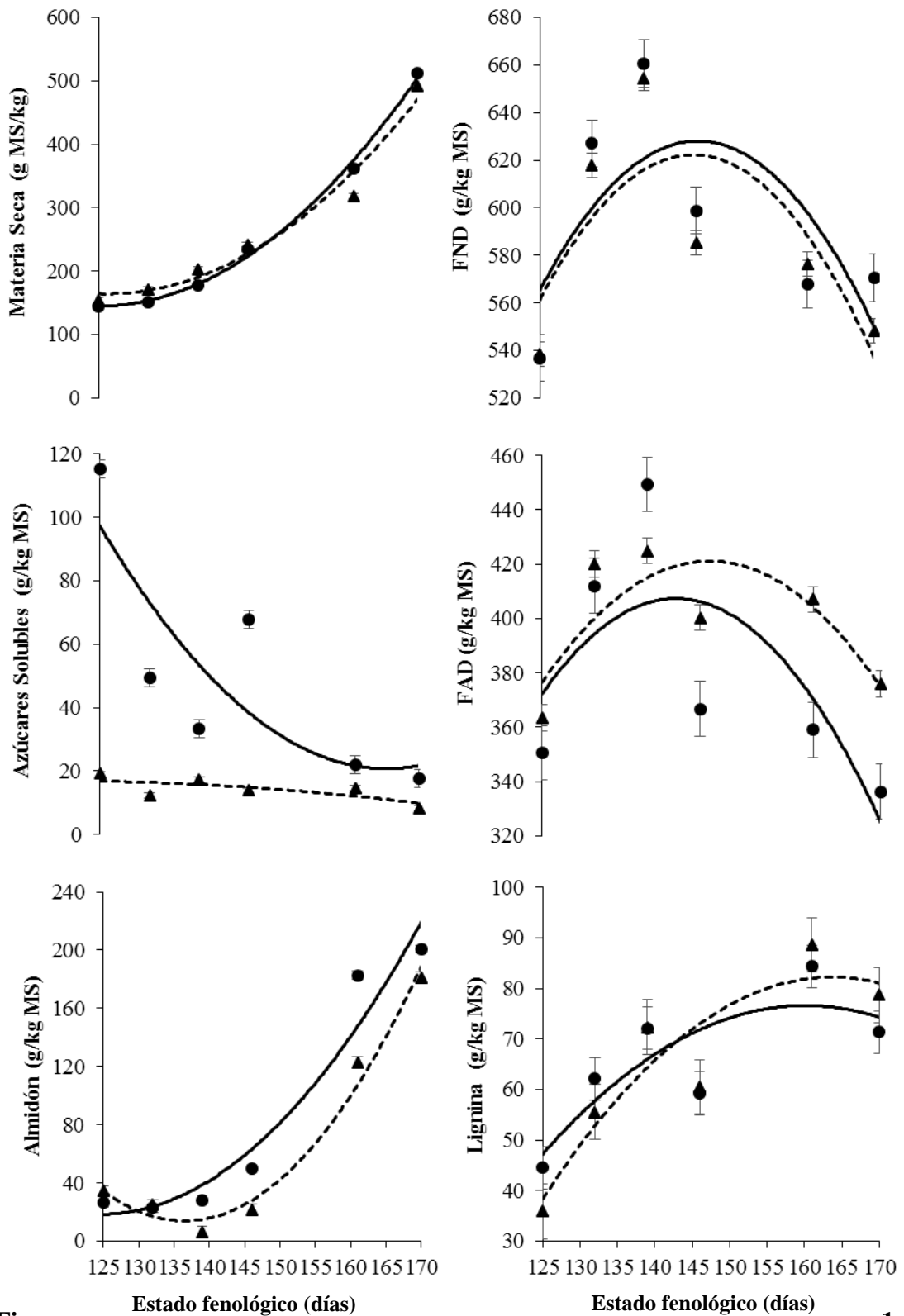
<sup>c</sup> Nivel de significancia del efecto lineal (L) y cuadrático (C) del estado fenológico en el forraje fresco.

<sup>d</sup> Nivel de significancia del efecto lineal (L) y cuadrático (C) del estado fenológico en el ensilaje.

<sup>e</sup> Estado fenológico expresado acorde a Zadoks et al. (1974).

<sup>f</sup> Estado fenológico expresado en días desde la siembra.

<sup>g</sup> PB, proteína bruta; PS, proteína soluble; FND y FAD, fibra neutro y fibra ácido detergente ; HC, hemicelulosa; NIDA y NIDN, nitrógeno adherido a la fibra ácido y neutro detergente; AS, azúcares solubles.



**Figura 1.** Composición química del forraje fresco (línea continua y círculos; polinómica orden 2) y ensilaje (línea punteada y rombos; polinómica orden 2) en los seis estados fenológicos expresados en días desde la siembra. Los días 125, 132, 139, 146, 161 y 170 corresponden a los estados fenológicos de embuche (Z45), floración completa (Z59), grano acuoso (Z69), grano lechoso (Z73), grano pastoso (Z83) y grano duro (Z91).

## 6.2. Calidad de fermentación y pérdidas

Los resultados de calidad de fermentación se presentan en el Cuadro IV. La densidad alcanzada en los microsilos descendió (L y C;  $P < 0,01$ ) a medida que avanzó el ciclo del cultivo, siendo la densidad promedio alcanzada desde embuche hasta grano pastoso (Z45-73) de 695 kg MF/m<sup>3</sup>, descendiendo a valores de 546 y 420 kg MF/m<sup>3</sup> en los estados fenológicos más tardíos (Z83 y 91). El pH del ensilaje aumentó (L y C;  $P < 0,01$ ) con la madurez del cultivo; se mantuvo por debajo de 4,2 desde embuche hasta grano lechoso (Z45-73) y aumentó en los estados de grano pastoso y duro (Z83-91). La producción de efluente descendió linealmente ( $P < 0,01$ ) desde embuche hasta grano duro. El descenso fue abrupto, pasando de una producción promedio de 427 L/t MS entre embuche y grano acuoso (Z45-69), a 39 L/t MS en grano lechoso, siendo nula en grano pastoso y duro (Z83-91). Hubo un incremento de la PS en todos los estados fenológicos, aunque este incremento fue menor en grano pastoso y duro (Z83-91). La CB de forraje fresco descendió linealmente ( $P < 0,01$ ) con el aumento de madurez del cultivo.

**Cuadro IV.** Calidad de fermentación y pérdidas del ensilaje en los seis estados fenológicos (Z45-Z91).

Ítem	Estado fenológico <sup>a</sup>						EEM <sup>b</sup>	P <sup>c</sup>	
	45	59	69	73	83	91		L	C
Días <sup>d</sup>	125	132	139	146	161	170			
Densidad <sup>e</sup>	705	695	699	680	546	420	5,68	<0,01	<0,01
pH	4,21	4,10	4,04	4,07	4,81	5,10	0,03	<0,01	<0,01
Efluente <sup>f</sup>	453	463	364	39	0	0	29,58	<0,01	<0,01
Inc. PS <sup>g</sup>	182	202	230	192	108	91	8,5	<0,01	<0,01
CB <sup>h</sup>	145	149	102	154	102	82	3,7	<0,01	0,29

<sup>a</sup> Estado fenológico expresado acorde a Zadoks et al. (1974).

<sup>b</sup> Error estándar de la media ( $n=9$  por estado fenológico,  $n=3$  por bloque).

<sup>c</sup> Nivel de significancia del efecto lineal (L) y cuadrático (C) del estado fenológico en el ensilaje.

<sup>d</sup> Estado fenológico expresado en días desde la siembra.

<sup>e</sup> Densidad, (kg MF/m<sup>3</sup>)

<sup>f</sup> Efluente, (L/t MS)

<sup>g</sup> Inc. PS; incremento de proteína soluble (g/kg PS)

<sup>h</sup> CB; capacidad buffer (meq/kg MS)

## 6.3. Producción de gas *in vitro*

Los parámetros de producción de gas *in vitro* se muestran en el Cuadro V. La producción potencial de gas ("A") del forraje fresco descendió (L y C;  $P < 0,01$ ) con el aumento de la madurez del cultivo y tras el proceso de ensilaje, siendo este descenso significativo en los estados de embuche, grano lechoso y pastoso (Z45, 73 y 83).

La tasa de producción de gas ("KD") presentó un efecto lineal y cuadrático (L y C;  $P < 0,01$ ) a lo largo del ciclo del cultivo y no varió tras el proceso de ensilaje ( $P=0,56$ ). Fue elevada en embuche y posteriormente descendió para aumentar nuevamente hacia el final del ciclo del cultivo.

El tiempo de latencia (“L”) presentó un efecto cúbico ( $P < 0,01$ ) en el forraje fresco, mientras que el ensilaje presentó un descenso lineal ( $P = 0,01$ ) con el aumento de madurez del cultivo. Tras el proceso de ensilaje el tiempo de latencia aumentó respecto al forraje fresco, en embuche y grano pastoso (Z45 y 83).

#### **6.4. Degradabilidad ruminal in situ**

Los resultados de degradabilidad ruminal de la MS y FND se presentan en el Cuadro VI. Respecto a los parámetros de degradabilidad ruminal de la MS, la fracción soluble (“a”) presentó un efecto cuadrático conforme aumentó la madurez del cultivo, tanto en forraje fresco (C;  $P < 0,01$ ) como en ensilaje (C;  $P = 0,02$ ). Fue elevada en embuche, descendió en grano acuoso (Z69), aumentando nuevamente hacia el final del ciclo. Tras el proceso de ensilaje, la fracción “a” descendió en el estado fenológico de grano duro (Z91; FF: 0,040 vs. E: 0,044).

La fracción no soluble potencialmente degradable en rumen (“b”) descendió linealmente con el aumento de la madurez del cultivo tanto en forraje fresco como ensilaje. Tras el proceso de ensilaje la fracción “b” aumentó en todos los estados fenológicos (promedio FF: 0,383 vs. E: 0,413).

La tasa fraccional de degradación (“kd”) descendió con el aumento de madurez del cultivo y tras el proceso de ensilaje (promedio FF: 0,029 vs. E: 0,023).

La degradabilidad efectiva de la MS (DE03, 06, 08) (Figura 2) descendió a tasas decrecientes (L y C;  $P < 0,01$ ) con el aumento de madurez del cultivo, presentando un descenso abrupto entre embuche y grano acuoso. Desde grano lechoso en adelante, la DE se estabilizó. El proceso de ensilaje provocó una disminución de la DE en embuche, floración y grano duro (Z45, 59 y 91;  $P < 0,01$ ).

En cuanto a la degradabilidad ruminal de la FND, la fracción no soluble potencialmente degradable en rumen (“b”) de la FND descendió a tasas decrecientes (L y C;  $P < 0,01$ ) conforme aumentó el ciclo del cultivo, desde 0,812 hasta 0,528 (promedio FF y E). Esta fracción aumentó levemente tras el proceso de ensilaje (FF: 0,65 vs. E: 0,67;  $P = 0,04$ ).

La tasa fraccional de degradación (“kd”) del forraje fresco presentó un efecto cuadrático ( $P = 0,01$ ), con valores elevados en embuche y grano pastoso-duro, mientras que en el ensilaje la fracción “kd” se mantuvo constante a lo largo del ciclo. El proceso de ensilaje descendió la tasa de degradación en embuche, grano pastoso y duro respecto al forraje original (Z45, 83 y 91;  $P < 0,01$ ).

La DE de la FND (DE03, 06, 08) (Figura 2) descendió conforme aumentó la madurez del cultivo (L y C;  $P < 0,01$ ). También descendió tras el proceso de ensilaje, en todos los estados fenológicos, excepto en grano lechoso (Z45, 59, 69, 83 y 91;  $P < 0,01$ ).

**Cuadro V.** Parámetros de producción de gas *in vitro* del forraje fresco y del ensilaje en los seis estados fenológicos (Z45-Z91).

Conservación	Forraje Fresco						Ensilaje						EEM <sup>a</sup>	P <sup>b</sup>			P <sup>c</sup>		P <sup>d</sup>	
	Estado fenológico <sup>e</sup>	45	59	69	73	83	91	45	59	69	73	83		91	F	E	F*E	L	C	L
Días <sup>f</sup>	125	132	139	146	161	170	125	132	139	146	161	170								
Parámetros de producción de gas <sup>h</sup>																				
A	232	213	208	202	200	195	223	212	204	188	189	194	1,831	<0,01	<0,01	0,06	<0,01	0,01	<0,01	<0,01
KD	0,05	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04	0,001	<0,01	0,56	0,04	0,01	<0,01	<0,01	<0,01
L	1,05	1,80	2,63	1,02	1,18	1,62	1,73	1,89	2,07	1,39	1,92	1,21	0,094	<0,01	0,06	<0,01	0,06	0,15	0,01	0,12

<sup>a</sup> Error estándar de la media (n=3 por estado fenológico, n=1 por bloque).

<sup>b</sup> Nivel de significancia del estado fenológico (F), del ensilaje (E) y de la interacción entre estado fenológico y ensilaje (F\*E).

<sup>c</sup> Nivel de significancia del efecto lineal (L) y cuadrático (C) del estado fenológico en el forraje fresco.

<sup>d</sup> Nivel de significancia del efecto lineal (L) y cuadrático (C) del estado fenológico en el ensilaje.

<sup>e</sup> Estado fenológico expresado acorde a Zadoks et al. (1974).

<sup>f</sup> Estado fenológico expresado en días desde la siembra.

<sup>h</sup> Parámetros de producción de gas; "A" (mL/g MSi) es la producción potencial de gas del total de la MS incubada, "KD" (h<sup>-1</sup>) la tasa fraccional de producción de gas y "L" (h) el tiempo de latencia.

**Cuadro VI.** Parámetros de degradabilidad ruminal *in situ* de la MS y FND en los seis estados fenológicos (Z45-Z91).

Conservación	Forraje Fresco						Ensilaje						EEM <sup>a</sup>	P <sup>b</sup>			P <sup>c</sup> Forraje Fresco		P <sup>d</sup> Ensilaje	
	45	59	69	73	83	91	45	59	69	73	83	91		F	E	F*E	L	C	L	C
Estado fenológico <sup>e</sup>																				
Días <sup>f</sup>	125	132	139	146	161	170	125	132	139	146	161	170								
<b>MS</b>																				
<i>a</i>	0,47	0,37	0,34	0,39	0,44	0,44	0,45	0,37	0,34	0,40	0,42	0,40	0,003	<0,01	<0,01	<0,01	0,48	<0,01	0,92	0,02
<i>b</i>	0,40	0,46	0,43	0,39	0,31	0,31	0,43	0,49	0,45	0,40	0,36	0,36	0,008	<0,01	<0,01	0,20	<0,01	0,07	<0,01	0,56
<i>c</i>	0,13	0,17	0,23	0,21	0,26	0,26	0,12	0,14	0,21	0,21	0,21	0,24	0,009	<0,01	0,02	0,70	<0,01	<0,01	<0,01	0,03
<i>kd</i>	0,05	0,04	0,03	0,02	0,02	0,02	0,04	0,03	0,03	0,02	0,02	0,01	0,002	<0,01	<0,01	0,17	<0,01	<0,01	<0,01	0,19
<i>DE03</i>	0,72	0,63	0,54	0,55	0,55	0,56	0,69	0,59	0,56	0,55	0,55	0,51	0,003	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
<i>DE06</i>	0,65	0,55	0,47	0,49	0,51	0,51	0,62	0,51	0,48	0,49	0,50	0,47	0,003	<0,01	<0,01	<0,01	0,02	<0,01	<0,01	<0,01
<i>DE08</i>	0,63	0,52	0,45	0,47	0,49	0,50	0,59	0,48	0,45	0,47	0,49	0,45	0,003	<0,01	<0,01	<0,01	0,05	<0,01	<0,01	0,03
<b>FND</b>																				
<i>b</i>	0,80	0,76	0,67	0,62	0,53	0,53	0,83	0,77	0,69	0,62	0,58	0,53	0,010	<0,01	0,04	0,50	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
<i>Kd</i>	0,06	0,05	0,04	0,03	0,06	0,05	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,002	<0,01	<0,01	<0,01	0,93	0,01	0,02	0,04
<i>DE03</i>	0,53	0,45	0,40	0,33	0,34	0,32	0,45	0,40	0,37	0,32	0,30	0,25	0,004	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
<i>DE06</i>	0,39	0,33	0,28	0,22	0,25	0,23	0,31	0,27	0,25	0,21	0,20	0,17	0,005	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
<i>DE08</i>	0,34	0,27	0,24	0,18	0,21	0,19	0,26	0,22	0,21	0,18	0,16	0,13	0,004	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

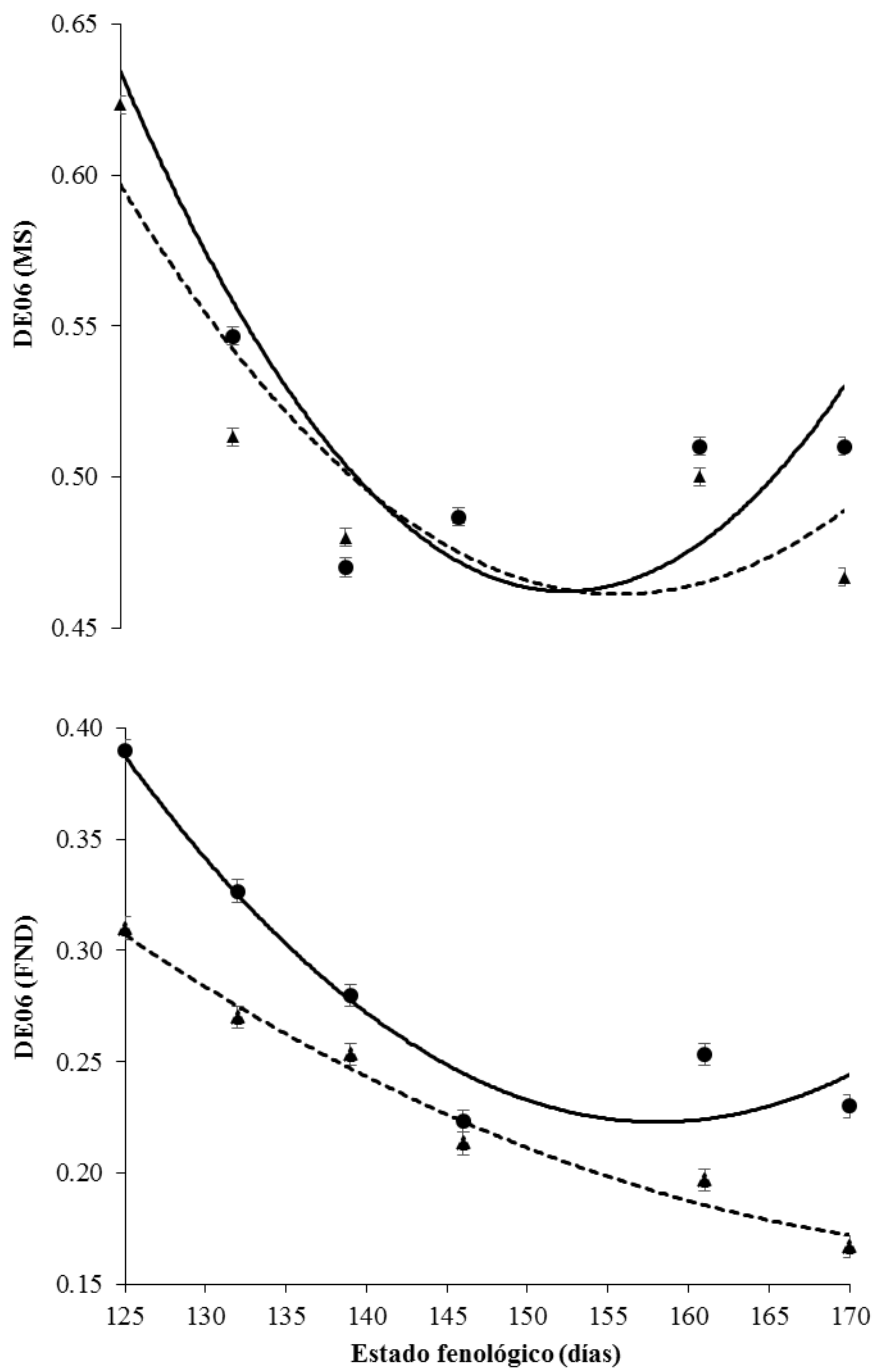
<sup>a</sup> Error estándar de la media (n=1 por estado fenológico).

<sup>b</sup> Nivel de significancia del estado fenológico (F), del ensilaje (E) y de la interacción entre estado fenológico y ensilaje (F\*E).

<sup>c</sup> Nivel de significancia del efecto lineal (L) y cuadrático (C) del estado fenológico en el forraje fresco y <sup>d</sup> en el ensilaje.

<sup>e</sup> Estado fenológico expresado acorde a Zadoks et al. (1974) y <sup>f</sup> Estado fenológico expresado en días desde la siembra.

*a*, fracción soluble; *b*, fracción no soluble potencialmente degradable en rumen; *kd*, tasa fraccional de degradación de “*b*” (/h); *c*, fracción indegradable; *DE*, degradabilidad efectiva usando una *kp* de 0,03 (*DE03*), 0,06 (*DE06*), 0,08 (*DE08*).



**Figura 2.** Degradabilidad efectiva de la materia seca (DE06 MS) y de la FND (DE06 FND) a una tasa de pasaje de 0,06 del forraje fresco (línea continua y círculos; polinómica orden 2) y ensilaje (línea punteada y triángulos; polinómica orden 2) en los seis estados fenológicos expresados en días desde la siembra. Los días 125, 132, 139, 146, 161 y 170 corresponden a los estados fenológicos de embuche (Z45), floración completa (Z59), grano acuoso (Z69), grano lechoso (Z73), grano pastoso (Z83) y grano duro (Z91).



## 7. DISCUSIÓN

### 7.1. Efecto del estado fenológico

Los parámetros de producción de gas *in vitro* y de degradabilidad ruminal *in situ*, indican que conforme aumentó la madurez del cultivo se produjo un descenso en fermentación ruminal de la MS y de la fibra. Esta disminución fue marcada en los estados fenológicos tempranos, entre embuche y grano acuoso-lechoso, tendiendo a estabilizarse hacia el final del ciclo del cultivo, entre grano lechoso y grano duro. Los cambios que ocurrieron en la fermentación ruminal a lo largo del ciclo del cultivo se encuentran correlacionados con los componentes químicos de la planta (Coblentz et al., 2013; Getachew et al., 2004), los cuales se vieron muy influenciados por el estado fenológico.

El descenso de la degradabilidad ruminal que ocurrió entre embuche y grano acuoso-lechoso se debe al aumento de los componentes de la pared celular (FND, FAD y lignina) y en menor medida a la disminución del contenido de azúcares solubles conforme aumentó la madurez del cultivo. La estabilización de la degradabilidad ruminal entre grano lechoso y grano duro se produjo gracias al aumento del contenido de almidón y la disminución de la fibra, lo cual compensó el alto contenido de lignina en estos estados fenológicos. A continuación se discutirá como los cambios que ocurren en los diferentes componentes químicos de la planta a lo largo del ciclo del cultivo afectan a la degradabilidad ruminal del forraje de planta entera de avena.

El aumento del contenido de FND y FAD desde embuche hasta grano acuoso-lechoso y el posterior descenso durante el llenado del grano ha sido descrito por numerosos autores, siendo un fenómeno que se repite en cereales de invierno (Khorasani et al., 1997; Mustafa & Seguin, 2003; Nadeau, 2007). Cherney & Marten (1982a, 1982b) evaluando la evolución del contenido de fibra en las diferentes estructuras de la planta de cereales de invierno, observaron que el contenido de fibra de la hoja y tallo aumenta cuando se produce la elongación de la planta y después se estabiliza. Por otro lado, la fibra de la inflorescencia aumenta hasta el comienzo del llenado del grano y posteriormente desciende como consecuencia del aumento del almidón. La concentración de lignina aumentó con la madurez del cultivo, confiriéndole resistencia química y biológica a la pared celular y fuerza mecánica a la planta, tal y como lo demuestran numerosos trabajos que evalúan cereales de invierno (Kilcher & Troelsen, 1973; Cherney & Marten, 1982a; Hessel & Thomas, 1987; Khorasani et al., 1997; Filya et al., 2002; Wallsten et al., 2009). Según Cherney & Marten (1982a, 1982b) el incremento se produce en todos los componentes de la planta, siendo más pronunciado en los tallos que en las hojas. Aunque el contenido de lignina de la inflorescencia disminuye cuando se produce el desarrollo del grano, este descenso no es suficiente para contrarrestar el aumento que ocurre en el resto de partes de la planta.

Además de los cambios que ocurren conforme aumenta la madurez, resulta interesante resaltar que los niveles de FND y FAD que presenta la *Avena sativa* var. Cantara son similares a los de otras variedades de avena estudiadas (Bergen et al., 1991; Seguin & Mustafa, 2003; Nadeau, 2007; Jacobs et al., 2009; Wallsten & Martinsson, 2009). Por otro lado, los niveles de lignina son similares a los reportados en variedades de trigo (Weinberg et al., 1991; Filya et al., 2002). Los trabajos que

evalúan variedades de avena reportan niveles de lignina inferiores a los del presente trabajo (Khorasani et al., 1997; Mustafa & Seguin, 2003; Nadeau, 2007) lo cual podría deberse a que evalúan variedades de avenas forrajeras con menor proporción de tallos.

En cuanto al efecto de los componentes de la pared celular sobre la degradabilidad ruminal, se ha demostrado que FND, FAD y lignina se correlacionan negativamente con la digestión de la pared celular (Cherney et al., 1983) y con la producción de gas *in vitro* (Getachew et al., 2004; Kamalak et al., 2005; Coblenz et al., 2013), especialmente la lignina, la cual es indegradable en el rumen (McDonald et al., 2011). A su vez, FND y HC, la cual también aumenta con la madurez del cultivo, presentan una correlación negativa con la tasa de producción de gas, indicando la lenta degradación de estos componentes (Getachew et al., 2004; Britos et al., 2007; Coblenz et al., 2013). El aumento del contenido de lignina también produce una disminución de la velocidad de degradación de la fracción “b” de la MS, lo cual ha sido reportado en avena (Coblenz & Walgenbach, 2010a; Coblenz et al., 2000) y raigrás (*Lolium perenne* L.) (Chaves et al., 2006). Ali et al. (2014) reportaron que la degradabilidad efectiva de la MS de ensilajes de raigrás a diferentes tasas de pasaje se encuentra correlacionada negativamente con el contenido de FND, indicando que la presencia de fibra insoluble restringe la degradación de la MS. La acumulación de compuestos de la pared celular por tanto, especialmente lignina, disminuye la colonización bacteriana y la degradación.

Por otro lado, los azúcares solubles descendieron a lo largo del ciclo del cultivo como consecuencia de su polimerización en forma de almidón, el principal carbohidrato de reserva del grano. El descenso ocurrió fundamentalmente en el momento del llenado del grano, entre grano lechoso y pastoso, lo cual ha sido reportado por numerosos trabajos que evalúan planta entera de avena (Bergen et al., 1991; Nadeau, 2007), cebada (Hargreaves et al., 2009) y trigo (Filya, 2003). Por otro lado, el aumento de la concentración de azúcares que se produjo en grano lechoso, se debe a que la planta acumula azúcares previo a la síntesis de almidón (McDonald, 1981). Este descenso en el contenido de azúcares solubles a lo largo del ciclo del cultivo, los cuales son de rápida degradación en el rumen, explica el descenso de la producción potencial de gas (“A”) y de la tasa de producción de gas (“KD”), así como de la fracción soluble potencialmente degradable en el rumen (“a”) desde embuche a grano acuoso-lechoso. En este sentido, Cajarville et al. (2015) observaron un aumento en la tasa de producción de gas *in vitro* en festuca (*Festuca arundinacea*) conforme aumentó el contenido de AS a lo largo del día.

En los estados fenológicos de grano lechoso, pastoso y duro, la fermentación ruminal tendió a estabilizarse, gracias al aumento del contenido de almidón y disminución del contenido de fibra, lo cual contrarrestó el efecto negativo del elevado nivel de lignina sobre la fermentación.

En este sentido, el aumento del contenido de almidón en la planta entera de avena se produjo como consecuencia del desarrollo de la inflorescencia y llenado del grano, debiéndose casi en su totalidad al aporte del grano (Liu & Mahmood, 2015). Como se mencionó, esto provocó una dilución del contenido de fibra, contrarrestando el efecto negativo de la lignina sobre la degradabilidad ruminal. El efecto compensatorio se produjo gracias al nivel de almidón que presenta esta variedad de avena en grano pastoso y duro (183 y 201 g/kg MS), el cual es elevado si

se compara con avenas forrajeras cosechadas en estos mismos estados fenológicos (Mustafa & Seguin, 2003) y similar a los valores reportados en avena granífera (Nadeau, 2007), trigo (Crovetto et al., 1998) y cebada (Hargreaves et al., 2009; Rustas et al., 2009).

El efecto beneficioso del almidón se ve reflejado tanto en los parámetros de producción de gas como de degradabilidad ruminal *in situ*. Gracias al aporte de almidón la producción potencial de gas (“A”) se estabilizó a partir de grano lechoso. En este sentido, se ha demostrado que existe una alta correlación entre la producción de gas *in vitro* y la degradabilidad del almidón (Chai et al., 2004), siendo esperable un incremento de la producción de gas en grano pastoso y grano duro, lo cual no se produce debido al elevado contenido de lignina en estos estados fenológicos. Por otro lado la tasa fraccional de producción de gas (“KD”) la cual descendió entre embuche y grano acuoso, aumentó nuevamente en grano pastoso y duro. En línea con estos resultados, Anele et al. (2015) estudiando grano de cebada con alto y bajo nivel de almidón reportaron un mayor “KD” en muestras de cebada con alto nivel de almidón, debido a la rápida degradación de este compuesto. El efecto conjunto del almidón y bajo nivel de fibra también se vio reflejado en la fracción soluble (“a”) de la MS la cual aumentó a partir de grano lechoso. Foster et al. (2011) atribuyeron la elevada fracción soluble de las leguminosas a la baja concentración de carbohidratos estructurales de estas en comparación con el *Paspalum notatum*. El efecto conjunto del almidón y el menor nivel de fibra, compensó el efecto negativo de la lignificación de la planta, produciendo un efecto neutralizante en la DE de la MS la cual descendió hasta grano acuoso-lecho y después se estabilizó.

Otros trabajos que evalúan el efecto del estado fenológico sobre la fermentabilidad ruminal de diferentes especies forrajeras como amaranto, alfalfa, diversas gramíneas (Hoffman et al., 1993; Yu et al., 2004; Kamalak et al., 2005; Ribeiro et al., 2014; Sarmadi et al., 2016) y cereales de invierno (Ashbell et al., 1997; Coblenz et al., 2000; Coblenz & Walgenbach, 2010a) reportaron un descenso de la degradabilidad ruminal y de la producción potencial de gas conforme aumentó la madurez de los cultivos debido al aumento del contenido de FND, FAD y lignina. Solo en los trabajos que evalúan cereales de invierno (Ashbell et al., 1997; Coblenz et al., 2000; Coblenz & Walgenbach, 2010a) se observó el efecto beneficioso del almidón que compensa la caída de la degradabilidad ruminal.

El descenso del contenido de PB conforme aumentó la madurez del cultivo ha sido previamente reportado en trabajos que evalúan avena y otros cereales de invierno a lo largo del ciclo (Bergen et al., 1991; Khorasani et al., 1993; Jacobs et al., 2009; Seguin & Mustafa, 2003; Nadeau, 2007), siendo el estado fenológico el principal factor que influye sobre la PB del forraje (McDonald, 1981). Este descenso se debe al incremento de la proporción de tallos conforme madura la planta, los cuales contienen menor concentración de PB en comparación con las hojas, mientras que el aporte de PB del grano amortigua la caída del contenido total de PB de la planta al final del ciclo (Kilcher & Troelsen, 1973; Cherney & Marten, 1982a, 1982b; Hessel & Thomas, 1987). Por otro lado, los niveles de PB reportados en este trabajo, coinciden con los reportados en distintas variedades de avena a lo largo del ciclo del cultivo (Bergen et al., 1991; Mustafa & Seguin, 2003; Jacobs et al., 2009; Wallsten et al., 2010). Una elevada proporción de la PB del cultivo es soluble (PS) y aunque se observó un descenso con la madurez del cultivo, hay autores que coinciden en que la proporción de PS del cultivo se mantiene relativamente constante

a lo largo del ciclo (Aii & Stobbs, 1980; Kohn & Allen, 1995). El interés de medir la PS radica en que esta fracción de la proteína es susceptible a sufrir proteólisis, como lo demuestra su alta degradabilidad ruminal (Rooke & Hatfield, 2003). Debido al bajo nivel de proteína que presenta la planta entera de avena, probablemente haya contribuido en escasa medida al descenso de la fermentescibilidad ruminal. Según Getachew et al. (2004) y Coblenz et al. (2013) la PB no presenta correlación con ningún parámetro de producción de gas.

Por otro lado, el descenso en el contenido de cenizas con el aumento de madurez del cultivo, ha sido descrito por otros autores, tanto en variedades de avena (Coblenz & Walgenbach, 2010b; Liu & Mahmood, 2015) como en otros cultivos (Giardini et al., 1976; McDonald et al., 2011; Sarmadi et al., 2016). Esto se produce por un proceso natural de dilución, translocación de nutrientes y debido a que la producción de MS excede la absorción de nutrientes conforme aumenta el área fotosintética. También puede explicarse parcialmente por el aumento en la proporción de tallos los cuales contienen normalmente menos concentración de cenizas que la hoja (Sarmadi et al., 2016).

En síntesis, el estado fenológico tiene un efecto significativo sobre la composición química de cultivo y en consecuencia sobre el aprovechamiento ruminal del mismo. Conforme aumenta la madurez de la avena granífera aumenta el contenido de MS y por ende el rendimiento del cultivo, aumenta la FND y FAD, durante la elongación de la planta, pero disminuye hacia el final del ciclo gracias al aumento del contenido de almidón. El incremento del contenido de lignina y la disminución de los azúcares solubles y de la PB, se ve compensado gracias al elevado contenido de almidón y la disminución de la fibra al final del ciclo. Como consecuencia de estos cambios en la composición química desciende el aprovechamiento ruminal de la planta entera lo cual se ve amortiguado parcialmente por la aparición del almidón al final de ciclo.

## ***7.2. Efecto del ensilaje***

Los cambios en el contenido de humedad, de azúcares solubles y la capacidad buffer del cultivo determinaron la calidad de fermentación del ensilaje. Por otro lado, el proceso de ensilaje provocó una reducción en la degradabilidad ruminal del forraje, lo cual se explica por los cambios ocurridos en los compuestos químicos tras el proceso de fermentación del ensilaje. Algunos de estos cambios se produjeron independientemente del momento de cosecha mientras que otros se vieron influenciados por el estado fenológico.

El aumento del contenido de MS con la madurez del cultivo ha sido descrito por numerosos trabajos que evalúan cereales de invierno. Inicialmente las hojas constituyen casi el 80% del total de la MS, descendiendo este porcentaje rápidamente con el aumento de madurez del cultivo. Con el comienzo del llenado del grano, la inflorescencia constituye la mayor parte de la MS de la planta hacia el final del ciclo del cultivo (Cherney & Marten, 1982a). En este sentido, la humedad del forraje es un factor determinante en la calidad del ensilaje, debido a que afecta de forma directa o indirecta a todos los procesos físicos, biológicos y químicos que ocurren en el silo. La disminución del contenido de humedad del cultivo a lo largo del ciclo influyó sobre la compactación del forraje, la fermentación, y producción de efluente entre otros factores.

La alta producción de efluente en embuche, floración y grano acuoso de debió al elevado contenido de humedad del forraje (<200 g MS/kg), mientras que no hubo producción de efluente en grano pastoso y duro, cuando el cultivo se ensiló con bajo contenido de humedad (>306 g MS/kg). Además, el alto contenido de humedad del cultivo favoreció la compactación del forraje, alcanzándose una elevada densidad entre embuche y grano lechoso. En este sentido, se ha descrito que tanto el contenido de humedad del cultivo como la presión ejercida sobre el material favorecen la producción de efluente (McDonald, 1981; Muck et al., 2003; McDonald et al., 2011). Los resultados de producción de efluente obtenidos en este trabajo coinciden con la ecuación de Bastiman (1976) la cual predice que no habrá producción de efluente si el forraje se ensila con un contenido de MS igual o superior a 290 g MS/kg.

La elevada producción de efluente presenta consecuencias negativas debido a la pérdida de nutrientes y al impacto ambiental. Por un lado, se produce una reducción del valor nutritivo del forraje como consecuencia de la pérdida de azúcares solubles, compuestos nitrogenados, minerales y ácidos grasos producto de la fermentación (McDonald et al., 2011). Por otro lado, la producción y eliminación de efluente supone un riesgo medioambiental por contaminación de aguas superficiales y profundas, debido a la alta demanda bioquímica de oxígeno, alto contenido de nutrientes y bajo pH (3,5-5) que presenta el efluente (Gebrehanna et al., 2014).

La humedad del cultivo en el momento de la cosecha, además de determinar la producción de efluente, fue el principal factor que afectó la densidad del ensilaje. Conforme aumentó el contenido de MS con la madurez del cultivo, aumentó la dificultad de compactación debido a que el cultivo se mostró más resiliente, tal y como lo describen Kennelly & Weinberg (2003). La reducción de la densidad del ensilaje que se observó entre grano lechoso y pastoso, coincide con el incremento de la MS desde 234 a 362 g MS/kg, reflejando el grado de consolidación del cultivo, y por tanto la cantidad de aire atrapado en el forraje cosechado durante el proceso de ensilaje. La densidad del ensilaje es un factor importante tanto por el manejo del silo en el campo, como por la biología de la fermentación, ya que la exclusión del aire permite alcanzar condiciones anaeróbicas, la cual es un prerrequisito para una buena fermentación y una alta recuperación de la MS del silo (Muck et al., 2003).

Otro de los factores que determinó la calidad de la fermentación fue el nivel de azúcares solubles presentes en el forraje antes de ensilar. Como se vio en el apartado anterior, el nivel de AS entre embuche y grano lechoso, fue elevado y suficiente para la fermentación por parte de las bacterias lácticas. Esto resulta una ventaja en comparación con las pasturas evaluadas en nuestro país, las cuales se ha visto que pueden presentar contenidos de azúcares inferiores al 5% sobre todo en épocas de menor luminosidad (otoño-invierno) o durante la mañana (Cajarville et al., 2012; Repetto et al., 2006; Antúnez y Caramelli, 2009). Sin embargo en los estados fenológicos de grano pastoso y grano duro el contenido de azúcares constituyó una limitante para la fermentación. La proporción de azúcares residuales retenidos en el ensilaje tras el proceso de fermentación fue mayor en los estados fenológicos más tardíos (0,166, 0,245, 0,493, 0,207, 0,660 y 0,503 azúcares solubles retenidos desde embuche hasta grano duro). Esto indica que se produjo una fermentación más extensa en estados fenológicos más tempranos gracias al mayor contenido de humedad y adecuado nivel de AS y por el contrario una fermentación restringida en estados fenológicos tardíos debido al bajo contenido en humedad y azúcares solubles

del forraje, tal y como observaron Bergen et al. (1991), Seguin & Mustafa (2003), Nadeau (2007) y Hargreaves et al. (2009) en avena y cebada.

La CB descendió con el aumento de madurez del cultivo, debido al descenso de los ácidos orgánicos de la planta como consecuencia del aumento en la proporción de tallos (Muck et al., 1991; Buxton & Kiely, 2003). Esto resulta ventajoso ya que desciende la capacidad de resistir a cambios en el pH del ensilaje (McDonald, 1981), siendo necesarios menos azúcares para la fermentación con el fin de obtener pH estables. Además resulta ventajoso el hecho de que esta variedad de avena presenta en promedio baja CB (122 meq/kg MS) si se compara con otras especies forrajeras como la alfalfa (472 meq/kg MS) u otras gramíneas (265-435 meq/kg MS) (McDonald et al., 1991).

El pH se mantuvo por debajo de 4,2 hasta el estado de grano lechoso, indicando que se produjo una adecuada fermentación gracias al nivel de AS, contenido de humedad y a la baja CB. El pH ha sido tradicionalmente el indicador de la calidad del ensilaje, considerándose de mala calidad a los ensilajes con valores de pH superiores a 4,2 (McDonald et al., 2011). Los bajos valores de pH alcanzados entre embuche y grano lechoso se asocian con bajos contenidos de MS (<240 g/kg) y una buena compactación del forraje (densidad promedio 695 kg MF/m<sup>3</sup>) y por tanto un adecuado ambiente de anaerobiosis. A su vez, estos valores de pH coinciden con niveles considerables de AS y consumo de los mismos tras el proceso de ensilaje. Por lo contrario, en grano pastoso y grano duro, el elevado pH se debe a un mayor contenido de MS, lo que condujo a una peor compactación (546 y 420 kg MF/m<sup>3</sup>), menor nivel de AS y consumo de los mismos tras el ensilaje. En línea con nuestros resultados, numerosos trabajos realizados en cereales de invierno, reportan un aumento del pH (>4,2) a partir de grano pastoso (Nadeau, 2007; Hargreaves et al., 2009; Jacobs et al., 2009; Wallsten et al., 2009).

La disminución en el contenido de proteína del ensilaje respecto al forraje fresco en floración y grano acuoso, podría deberse a un mayor contenido de humedad y pérdida de N por el efluente, mientras que el mayor contenido de PB en grano pastoso y grano duro, se debe a una concentración de nutrientes como consecuencia de la pérdida de MS. El proceso de ensilaje provocó el aumento de la PS, el cual fue de similar magnitud en todos los estados fenológicos, siendo la proporción de incremento de 0,55, 0,57, 0,58, 0,42 y 0,60 desde embuche hasta grano duro. En línea con estos resultados, Repetto et al. (2005) y Cajarville et al. (2012) reportaron entorno a un 60% de incremento de la PS en ensilajes de alfalfa y pasturas templadas.

Por otro lado el NIDN descendió tras el proceso de ensilaje en todos los estados fenológicos, mientras que el NIDA descendió entre embuche y grano lechoso. Numerosos trabajos que evalúan los cambios que ocurren en el ensilaje de diferentes especies forrajeras observaron que entre el día 0 y 4 de ensilaje ocurre un rápido y significativo aumento de la PS y del NNP, constituyendo la PS la mayor parte del NNP. Esto según observaron los autores va acompañado de una marcada disminución en la proteína verdadera del forraje y del NIDN (Mustafa et al., 2002; Seguin & Mustafa, 2003; Seguin et al., 2013). Los cambios en la fracción proteica en los primeros días de ensilaje se deben a una extensa proteólisis de la proteína verdadera en compuestos de NNP, debido a la acción de las proteasas de la planta (McDonald, 1981). Debido al bajo contenido proteico de la planta entera de avena, se

midió PB la cual es indicativa de la contribución de compuestos nitrogenados al total de MS del forraje (Buxton & O'Kiely, 2003) y no se realizó el fraccionamiento de la proteína. Sin embargo los cambios en PS y NIDN estarían indicando que se produjo proteólisis por proteasas de la planta durante el ensilaje en todos los estados fenológicos. El NIDA descendió significativamente cuando el contenido de humedad fue más elevado. Esto podría deberse al secado en estufa o a una posible proteólisis. En cuanto a lo último, entre los factores que afectan a la proteólisis el contenido de MS es el más influyente, resultando un menor contenido de MS en mayor proteólisis (Ohshima & McDonald, 1978; Slottner & Bertilsson, 2006). Por otro lado, la disminución del contenido de nitrógeno adherido a la fibra, se relaciona más con la proteólisis y no a la pérdida de carbohidratos de la fracción FND y FAD, la cual prácticamente no varió tras el ensilaje. Los indicios de proteólisis estarán indicando una reducción en el valor nutritivo del forraje tras el ensilaje.

El aprovechamiento ruminal del ensilaje de planta entera de avena descendió como consecuencia de los cambios en la composición química que acontecieron tras la fermentación del ensilaje, tal y como lo indican los parámetros de producción de gas *in vitro* y degradabilidad ruminal *in situ*.

El descenso del aprovechamiento ruminal de la MS que se produjo desde embuche a grano lechoso, se explica fundamentalmente por la reducción del contenido de azúcares solubles tras el proceso de ensilaje. El contenido de AS descendió tras el ensilaje como consecuencia del proceso de fermentación anaeróbica por parte de las bacterias lácticas presentes en el mismo, tal y como lo reportan numerosos trabajos que evalúan los cambios que ocurren tras el ensilaje (Britos et al., 2007; Cajarville et al., 2012). Estas bacterias metabolizan azúcares, fundamentalmente glucosa y fructosa, para obtener energía liberando productos finales ácidos y neutros (Rooke & Hatfield, 2003). El descenso de azúcares fue significativo entre embuche y grano lechoso, momentos en los que el contenido inicial de azúcares y humedad fue suficiente para producir una adecuada fermentación. Se ha visto que los azúcares solubles son una fuente de energía rápidamente disponible para los microorganismos durante la fermentación ruminal. Trabajos que evalúan distintos tipos de forrajes, demuestran la correlación positiva que existe entre el contenido de AS y la producción de gas *in vitro* (Kamalak et al., 2005; Britos et al., 2007; Amer et al., 2012; Islam et al., 2012; Coblenz et al., 2013). En este sentido, Amer et al. (2012) comparando variedades de mijo y sorgo con altos y bajos contenidos de AS, reportaron mayor producción de gas y tasa de producción de gas en aquellas variedades con mayor contenido de azúcares. En línea con esto, Britos et al. (2007) y Cajarville et al. (2015), observaron una correlación positiva entre concentración de azúcares solubles y fermentación *in vitro* de pasturas templadas.

Por otro lado, el descenso de la degradabilidad ruminal que se produce en los estados fenológicos más maduros se explica por la reducción del contenido de hemicelulosa y almidón que ocurre tras el proceso de ensilaje. El contenido de hemicelulosa descendió tras el ensilaje en grano lechoso, pastoso y duro debido a la hidrólisis que se produce como consecuencia de la actividad enzimática de la planta (Morrison, 1979; McDonald, 1981). En línea con este resultado, Morrison (1979) y Peyrat et al. (2014) reportaron un descenso significativo de contenido de HC respecto al forraje original en ensilajes de raigrás perenne y de maíz respectivamente, siendo la fracción más afectada dentro de los carbohidratos de la pared celular. Según

Dewar et al. (1963) uno de los factores que favorece la actividad enzimática de las hemicelulasas durante el ensilaje es el elevado pH, lo cual explicaría porque la hidrólisis de la hemicelulosa se produjo en estados de madurez más tardíos.

El descenso del contenido de almidón entre grano acuoso y grano duro, se debió a la hidrólisis de este compuesto durante el proceso de ensilaje. Las bacterias lácticas solo pueden metabolizar azúcares simples y algunos disacáridos como la sacarosa y maltosa. Por tanto para convertir polisacáridos u oligosacáridos complejos como el almidón en azúcares fermentables se requiere de una actividad hidrolítica apropiada y suficiente, lo cual dependerá del polisacárido a degradar (McDonald, 1981). Dado que los carbohidratos complejos de reserva son sujeto del recambio metabólico durante el desarrollo de la planta, Rooke & Hatfield, (2003) sostienen que la planta cuenta con las enzimas necesarias para hidrolizar almidón y fructanos. Nuestros resultados respaldan esta hipótesis de que durante el ensilaje se produce el metabolismo parcial del almidón.

Tanto la hidrólisis de la hemicelulosa como del almidón resultaría ventajoso desde el punto de vista de la fermentación del ensilaje ya que aportan carbohidratos simples, los cuales constituyen sustrato fermentable en estados fenológicos en los cuales el nivel de AS es bajo. Sin embargo representa una desventaja desde el punto de vista de la calidad nutricional del ensilaje ya que reduce el valor nutritivo y la degradabilidad ruminal del mismo.

Cabe resaltar que aunque se produjo un leve descenso en la degradabilidad ruminal, todos los parámetros tanto de producción de gas como de degradabilidad ruminal *in situ* del ensilaje, siguieron el mismo patrón de descenso que el forraje fresco a lo largo del ciclo del cultivo. Esto demuestra que si bien los azúcares solubles son un sustrato importante de fermentación, los compuestos que más determinan la fermentación son los componentes de la pared celular, en concreto el contenido de FND, la cual permaneció prácticamente sin cambios tras el ensilaje.

Con respecto a la fibra, la degradabilidad efectiva de la FND descendió tras el proceso de ensilaje. Esto se debe a que la FND que queda en el ensilaje tras la hidrólisis parcial de la HC es probablemente menos degradable que la FND del forraje fresco (Peyrat et al., 2014). Por otro lado se ha demostrado que la en las bolsas de incubación se forma un microambiente donde el pH y la actividad microbiana dependen más del tipo de alimento incubado que de las condiciones ruminales. Por tanto podría esperarse que el pH será menor en bolsas conteniendo ensilaje que en bolsas con forraje fresco, lo que contribuiría a una menor degradación de la FND del ensilaje (Nozière & Michalet-Doreau, 2000).

Por otro lado, la reducción de la velocidad de degradación y el aumento del tiempo de latencia del ensilaje, podría deberse a la colonización bacteriana más lenta debido a la menor concentración de nutrientes fermentables en las partículas de ensilaje, su mayor contenido en ácidos orgánicos (los cuales pueden tener efectos tóxicos para los microorganismos) o una mayor resistencia a la degradación del sustrato, lo que implica un menor suministro de nutrientes para el desarrollo de colonias (González et al., 2007). La reducción de la tasa de degradación de la FND tras el ensilaje, se debe a que la FND del ensilaje presenta menor contenido de HC, resultando en una fermentación más lenta, ya que la HC se degrada más rápido que otros componentes de la FND o FAD. Britos et al. (2007) observaron que la tasa de



producción de gas (KD) fue mayor para las pasturas originales que para los ensilajes. En línea con los resultados del presente trabajo, González et al. (2007), Repetto et al. (2011) y Cajarville et al. (2012) observaron una disminución de la DE de la MS y FND en ensilajes de raigrás, alfalfa y mezcla de gramíneas y leguminosas.

En síntesis, las limitantes para alcanzar una adecuada fermentación del ensilaje fueron distintas según el estado fenológico del cultivo en el momento de la cosecha. Entre embuche y grano acuoso, el alto contenido de humedad del cultivo condujo a una elevada producción de efluente, mientras que entre grano pastoso y grano duro, el bajo contenido de humedad y de azúcares solubles, produjo una restricción en la fermentación. En el estado fenológico de grano lechoso se produjo una adecuada fermentación, gracias al equilibrio entre contenido de humedad y disponibilidad de azúcares solubles para la fermentación, sin reducción en la DE de la MS y FND respecto al forraje original.

Con el fin de disminuir la producción de efluente en estados fenológicos con alto contenido de humedad, se sugiere el uso de alternativas tecnológicas como el premarchitado del forraje, el uso de sustancias absorbentes, o simplemente la elección del momento de cosecha en base al contenido de MS. Respecto al premarchitado del forraje, Repetto et al. (2005) estudiando diferentes pasturas de establecimientos lecheros comerciales (150-240 g MS/kg) observaron que el premarchitado durante 8 horas hasta 350 g MS/kg no provocó alteraciones negativas química o biológicamente detectables y sólo ocasionó leves descensos en la degradabilidad de la MS y de los componentes proteicos de los forrajes. Como alternativa al premarchitado algunos autores han propuesto el uso de sustancias absorbentes (Fransen y Strubi, 1998; Coan et al., 2007) que se incluyen en el silo junto con el forraje en el momento de la elaboración. En este sentido, amerita el estudio de diferentes alternativas tecnológicas para reducir la producción de efluente si el cultivo se cosecha en estados fenológicos tempranos con alto contenido de humedad.

Por otro lado, para mejorar la calidad del ensilaje elaborado en grano pastoso y grano duro y disminuir el impacto del ensilaje sobre la degradabilidad ruminal, se recomienda el uso de estimulantes de la fermentación, en concreto de sustratos, que aporten nutrientes a los lactobacilos y al mismo tiempo humedad. En este sentido, Britos et al. (2007), Repetto et al. (2011) y Cajarville et al. (2012), observaron que la adición de suero de quesería mejoró la conservación, el valor nutritivo, la capacidad fermentativa *in vitro*, la degradabilidad ruminal *in situ* de ensilajes de pradera y alfalfa. La utilización del suero de quesería fresco permitiría el aporte no solo de sustrato sino también de agua, lo que permitiría mejorar además de la fermentación, la compactación del ensilaje y por tanto las condiciones de anaerobiosis.

Finalmente, la reducción de la degradabilidad ruminal del ensilaje respecto al forraje original, deja claro que el uso del forraje fresco para evaluar la degradabilidad ruminal de ensilaje de plata entera de avena sobreestimaría la degradabilidad de la MS y FND.

## **8. CONCLUSIONES E IMPLICANCIAS**

Los resultados permiten concluir que el estado fenológico afectó la composición química, calidad de fermentación y aprovechamiento ruminal de la planta entera de *Avena sativa* variedad Cantara (LEA 1). Los cambios en la composición química de la planta conforme avanza su madurez provocan un descenso en el aprovechamiento ruminal de la MS y FND, el cual se ve compensado por el aporte de almidón al final del ciclo.

Por otro lado, el proceso de ensilaje redujo el valor nutritivo del forraje y su aprovechamiento ruminal. Sin embargo, en base a los resultados se plantea que teniendo adecuado conocimiento del contenido de materia seca y de la composición química del cultivo en el momento de la cosecha se puede lograr minimizar el impacto negativo del ensilaje, a través de la aplicación de alternativas tecnológicas adecuadas.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aii T., Stobbs T.H. (1980). Solubility of the protein of tropical pasture species and the rate of its digestion in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 5:183–192.
2. Ali M., Cone J.W., Van Duinkerken G., Klop A., Kruisdijk J., Blok M.C., Bruinenberg M., Hendriks W.H. (2014). Relationship between chemical composition and in situ rumen degradation characteristics of grass silages in dairy cows. *NJAS - Wageningen J. Life Sci.* 70:9–15.
3. Amer S., Hassanat F., Berthiaume R., Seguin P., Mustafa A.F. (2012). Effects of water soluble carbohydrate content on ensiling characteristics, chemical composition and in vitro gas production of forage millet and forage sorghum silages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 177:23–29.
4. Anele U.Y., Refat B., Swift M.L., Zhao Y.L., Doublier C., McAllister T.A., Yang W.Z. (2015). *In vitro* ruminal fermentation of ground and dry-rolled barley grain differing in starch content. *Anim. Feed Sci. Technol.* 203:88–94.
5. Antúnez M., Caramelli A. (2009). Variación en la composición química y producción de gas *in vitro* de pasturas de acuerdo al horario de corte. Tesis de Grado, Facultad de Veterinaria, UdelaR. 43p.
6. A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists (1997). *Methods of Analysis*. 16th ed. 3rd revision. Gaithersburg, MD, USA.
7. Ashbell G., Weinberg Z.G., Bruckental I., Tabori K., Sharef N. (1997). Wheat silage: Effect of cultivar and stage of maturity on yield and degradability *in situ*. *J. Agric. Food Chem.* 45:709–712.
8. Coan R.M., Andrade Reis R.A., Rojas Garcia G., Schocken-Iturrino R.P., de Souza Ferreira D., Dutra de Resende F., do Amaral Gurgel F. (2007). Dinâmica fermentativa e microbiológica de silagens dos capins tanzânia e marandu acrescidas de polpa cítrica peletizada. *R. Bras. Zootec.*, 36, 5 (supple), 1502-1511.
9. Bergen W.G., Byrem T.M., Grant A.L. (1991). Ensiling characteristics of whole-crop small grains harvested at milk and dough stages. *J. Anim. Sci.* 69:1766–1774.
10. Britos A., Repetto J.L., Garciarena D., Cajarville C. (2007). Efecto del suero de queso como aditivo de ensilajes de pastura sobre la conservación, los azúcares solubles y la producción de gas *in vitro*. *Agrociencia* XI:72–77.
11. Burgess P.L., Nicholson J.W.G., Grant E.A. (1973). Yield and nutritive value of corn, barley, wheat, and forage oats as silage for lactating dairy cows. *Can. J. Anim. Sci.* 53:245–250.
12. Buxton D.R., O’Kiely P. (2003). Preharvest plant factors affecting ensiling. En: Buxton D.R, Muck R.E, Harrison J.H (2003) *Silage Science and Technology*. Ed. Am. Soc. Agron., Crop Sci. Soc. Am., Soil Sci. Soc. Am., Madison, Wisconsin, USA, Cap. 5, pp. 199-250.
13. Cajarville C., Britos A., Garciarena D., Repetto J.L. (2012). Temperate forages ensiled with molasses or fresh cheese whey: Effects on conservation quality, effluent losses and ruminal degradation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 171:14-19.
14. Cajarville C., Stirling S., Repetto J.L. (2014). Ensilajes de pastura de alta calidad: asignatura pendiente en el camino de intensificación de los sistemas lecheros. Últimos avances tecnológicos para mejorar el proceso de elaboración. XLII Jornadas Uruguayas Buiatría. Paysandú, Uruguay.

15. Cajarville C., Britos A., Errandonea N., Gutiérrez L., Cozzolino D., 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 Zeal. J. Agric. Res.* 58:281-291.
16. Chai W.Z., Van Gelder A.H., Cone J.W. (2004). Relationship between gas production and starch degradation in feed samples. *Anim. Feed Sci. Technol.* 114:195-204.
17. Chaves A. V., Waghorn G.C., Brookes I.M., Woodfield D.R. (2006). Effect of maturation and initial harvest dates on the nutritive characteristics of ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Anim. Feed Sci. Technol.* 127:293-318.
18. Chapman D.F., Kenny S.N., Beca D., Johnson I.R. (2008a). Pasture and forage crop systems for non-irrigated dairy farms in southern Australia. 1. Physical production and economic performance. *Agr. Syst.* 97:108-125.
19. Cherney J.H., Marten G.C. (1982a). Small grain crop forage potential: I. Biological and chemical determinants of quality, and yield. *Crop Sci.* 22:227-230.
20. Cherney J.H., Marten G.C. (1982b). Small grain crop forage potential: II. Interrelationships among biological, chemical, morphological, and anatomical determinants of quality. *Crop Sci.* 22:240-245.
21. Cherney J.H., Marten G.C., Goodrich R.D. (1983). Rate and extent of cell wall digestion of total forage and morphological components of oats and barley. *Crop Sci.* 23:213-216.
22. Chilibroste P., 2015. Carga o Productividad individual? ¿Pasto o concentrado? Mitos y realidades en la intensificación de los sistemas de producción de leche de Uruguay. XLIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. 158-162.
23. Coblenz W.K., Coffey K.P., Turner J.E., Scarbrough D.A., Weyers J.S., Harrison K.F., Johnson Z.B., Daniels L.B., Rosenkrans C.F., Kellogg D.W., Hubbell D.S. (2000). Effect of maturity on degradation kinetics of sod-seeded cereal grain forage grown in northern Arkansas. *J. Dairy Sci.* 83:2499-2511.
24. Coblenz W.K., Nellis S.E., Hoffman P.C., Hall M.B., Weimer P.J., Esser N.M., Bertram M.G. (2013). Unique interrelationships between fiber composition, water-soluble carbohydrates, and *in vitro* gas production for fall-grown oat forages. *J. Dairy Sci.* 96:7195-209.
25. Coblenz W.K., Walgenbach R.P. (2010a). *In situ* disappearance of dry matter and fiber from fall-grown cereal-grain forages from the north-central United States. *J. Anim. Sci.* 88:3992-4005.
26. Coblenz W.K., Walgenbach R.P. (2010b). Fall growth, nutritive value, and estimation of total digestible nutrients for cereal-grain forages in the north-central United States. *J. Anim. Sci.* 88:383-399.
27. Condón F., Cuitiño, M.J., Rossi C., Rebuffo M. (2012). Columba y Halley: Nuevos cultivares de avena forrajera. *Rev. INIA* 31:26-29.
28. Contreras-Govea F.E., Albrecht K.A. (2006). Forage production and nutritive value of oat in autumn and early summer. *Crop Sci.* 46:2382-2386.
29. Crovetto G.M., Galassi G., Rapetti L., Sandrucci A., Tamburini A. (1998). Effect of the stage of maturity on the nutritive value of whole crop wheat silage. *Livest. Prod. Sci.* 55:21-32.
30. D'Alessandro J., Corengia C.F., Repetto J.L., Cajarville C., Echarri V., Hareau M. (1994). Valor nutritivo de distintos ensilados en la alimentación del ganado lechero, *Veterinaria* 29:4-10.

31. Dewar W.A., McDonald P., Whittenbury R. (1963). The hydrolysis of grass hemicelluloses during ensilage. *J. Sci. Food Agric.* 14:411–417.
32. Díaz J.E. (2012). Informe de resultados para empresas semilleristas interesadas en el licenciamiento de la variedad de avena granífera LEA 1. Mejoramiento Genético de Cebada y Avena granífera. INIA.
33. DIEA. (2015). Anuario Estadístico Agropecuario 2015. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Estadísticas Agropecuarias, Uruguay.
34. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F., (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28:350–356.
35. Fariña S. (2016). Desafíos futuros para los sistemas de producción de leche de Uruguay. XLIV Jornadas Uruguayas Buiatría. Paysandú, Uruguay. 65–69.
36. Filya I. (2003). Nutritive value of whole crop wheat silage harvested at three stages of maturity. *Anim. Feed Sci. Technol.* 103:85–95.
37. Filya I., Hill J., Leaver J.D., Crovetto G.M., Galassi G., Rapetti L., Sandrucci A., Tamburini A. (2002). Nutritive value of whole crop wheat silage harvested at three stages of maturity. *Anim. Feed Sci. Technol.* 55:281–301.
38. Foster J.L., Carter J.N., Sollenberger L.E., Blount A.R., Myer R.O., Maddox M.K., Phatak S.C., Adesogan A.T. (2011). Nutritive value, fermentation characteristics, and *in situ* disappearance kinetics of ensiled warm-season legumes and bahiagrass. *J. Dairy Sci.* 94:2042–50.
39. Frank A.B., Cardwell V.B., Ciha A.I., Wilhelm W.W. (1997). Growth staging in research and crop management. *Crop Sci.* 1039–1040.
40. Fransen S.C., Strubi F.J. (1998). Relationships among absorbents on the reduction of grass silage effluent and silage quality. *J Dairy Sci* 81:2633–2644.
41. Gebrehanna M.M., Gordon R.J., Madani A., VanderZaag A.C., Wood J.D. (2014). Silage effluent management: a review. *J. Environ. Manage.* 143:113–22.
42. Getachew G., Robinson P.H., DePeters E.J., Taylor S.J. (2004). Relationships between chemical composition, dry matter degradation and *in vitro* gas production of several ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 111:57–71.
43. Giardini A., Gaspari F., Vecchiellini M., Schenoni P. (1976). Effect of maize silage harvest stage on yield, plant composition, and fermentation losses. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1:313–326.
44. González J., Faría-Mármol J., Rodríguez C.A., Martínez A. (2007). Effects of ensiling on ruminal degradability and intestinal digestibility of Italian ryegrass. *Anim. Feed Sci. Technol.* 136:38–50.
45. Hargreaves A., Hill J., Leaver J.D.D. (2009). Effect of stage of growth on the chemical composition, nutritive value and ensilability of whole-crop barley. *Anim. Feed Sci. Technol.* 152:50–61.
46. Helsel Z.R., Thomas J.W. (1987a). Small Grains for Forage. *J. Dairy Sci.* 70:2330–2338.
47. Hoffman P.C., Sievert S.J., Shaver R.D., Welch D.A., Combs D.K. (1993). *In situ* dry matter, protein, and fiber degradation of perennial forages. *J. Dairy Sci.* 76:2632–2643.
48. INALE (2014). Encuesta lechera 2014, Resultados preliminares. Informes y Estudios Económicos Programas y Proyectos. Uruguay.

49. Irigoyen A., Majó E., Chalklin D. (2011). Relevamiento nacional de reservas forrajeras y caracterización de su uso en establecimientos comerciales. Serie: FPTA N° 119, INIA, Uruguay.
50. Islam M.R., Garcia S.C., Horadagoda A. (2012). Effects of residual nitrogen, nitrogen fertilizer, sowing date and harvest time on yield and nutritive value of forage rape. *Anim. Feed Sci. Technol.* 177:52–64.
51. Jacobs J.L.A., Hill J.B., Jenkin T.A. (2009). Effect of stage of growth and silage additives on whole crop cereal silage nutritive and fermentation characteristics. *Anim. Prod. Sci.* 49:595–607.
52. Jasaitis D.K., Wohlt J.E., Evans J.L. (1987). Influence of feed ion content on buffering capacity of ruminant feedstuffs *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 70, 1391–1403.
53. Kamalak A., Canbolat O., Gurbuz Y., Erol A., Ozay O. (2005). Effect of maturity stage on chemical composition, *in vitro* and *in situ* dry matter degradation of tumbleweed hay (*Gundelia tournefortii* L.). *Small Rumin. Res.* 58:149–156.
54. Kennelly J.J., Weinberg Z.G. (2003). Small Grain Silage. En: Buxton D.R, Muck R.E, Harrison J.H (2003) *Silage Science and Technology*. Ed. Am. Soc. Agron., Crop Sci. Soc. Am., Soil Sci. Soc. Am., Madison, Wisconsin, USA, Cap.16, pp. 749-779.
55. Khorasani G.R., Jedel P.E., Helm J.H., Kennelly J.J. (1997). Influence of stage of maturity on yield components and chemical composition of cereal grain silages. *Can. J. Anim. Sci.* 77:259–267.
56. Khorasani G.R., Okine E.K., Kennelly J.J., Helm J.H. (1993). Effect of whole crop cereal grain silage substituted for alfalfa silage on performance of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:3536–46.
57. Kilcher M.R., Troelsen J.E. (1973). Contribution and nutritive value of the major plant components of oats through progressive stages of development. *Can. J. Plant Sci.* 251–256.
58. Lassiter C.A., Huffman C.F., Dexter S.T., Duncan C.W. (1958). Corn versus oat silages as a roughage for dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 41:1282–1285.
59. Licitra G., Hernandez T.M., Van Soest P.J. (1996). Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 57:347–358.
60. Liu K., Mahmood K. (2015). Nutrient composition and protein extractability of oat forage harvested at different maturity stages as compared to grain. *J. Agric. Sci.* 7:50.
61. Manninen M., Virkajärvi P., Jauhiainen L. (2005). Effect of whole-crop barley and oat silages on the performance of mature suckler cows and their progeny in outdoor winter feeding. *Anim. Feed Sci. Technol.* 121:227–242.
62. Martini M.Y., Mckenzie B.A., Moot D.J., Hill G.D., Ruiter J.M. (2009). Dry matter accumulation of oats sown at five different sowing dates. *Agron. New Zeal.* 39:71–80.
63. Martz F.A., Noller C.H., Hill D.L., Carter M.W. (1959). Intake and value for milk production of oat silages ensiled at three stages of maturity and preserved with sodium metabisulfite. *J. Dairy Sci.* 42:1955–1959.
64. Mauricio R.M., Mould F.L., Dhanoa M.S., Owen E., Channa K.S., Theodorou M.K. (1999). A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 79:321–330.

65. McCartney D.H., Vaage A.S. (1994). Comparative yield and feeding value of barley, oat and triticale silages. *Can. J. Anim. Sci.* 74:91–96.
66. McDonald P. (1981). *The biochemistry of silage*. Ed. Wiley 1<sup>a</sup> ed., Chichester, UK.
67. McDonald P., Greenhalgh J.F.D., Morgan C.A., Edwards R.A., Sinclair L.A., Wilkinson R.G. (2011). *Animal Nutrition*. Ed. Pearson 7<sup>a</sup> ed. Canadá, USA.
68. McDonald P., Henderson A.R., Heron S.E. (1991). *The biochemistry of herbage*. Ed. Chalcombe Publications, 2<sup>a</sup> ed., Marlow, UK.
69. Mertens D.R., Allen M., Carmany J., Clegg J., Davidowicz A., Drouches M., Frank K., Gambin D., Garkie M., Gildemeister B., Jeffress D., Jeon C.S., Jones D., Kaplan D., Kim G.N., Kobata, S., Main D., Moua X., Paul B., Robertson J., Taysom D., Thiex N., Williams J., Wolf M. (2002). Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 85:1217–1240.
70. Morrison I.M. (1979). Changes in the cell wall components of laboratory silages and the effect of various additives on these changes. *J. Agric. Sci.* 93:581–586.
71. Mould F.L., Morgan R., Kliem K.E., Krystallidou E. (2005). A review and simplification of the *in vitro* incubation medium. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123-124:155–172.
72. Muck R.E., Moser L.E., Pitt R.E. (2003). Postharvest factors affecting ensiling. En: Buxton D.R, Muck R.E, Harrison J.H (2003) *Silage Science and Technology*. Ed. Am. Soc. Agron., Crop Sci. Soc. Am., Soil Sci. Soc. Am., Madison, Wisconsin, USA, Cap. 6, pp. 251-297.
73. Muck R.E., O’Kiely P., Wilson R.K. (1991). Buffering capacities in permanent pasture grasses. *Irish J. Agric. Res.* 30:129–141.
74. Mustafa A.F., Seguin P. (2003). Effects of stage of maturity on ensiling characteristics and ruminal nutrient degradability of oat silage. *Arch. Anim. Nutr.* 57:347–358.
75. Mustafa A.F., Seguin P., Ouellet D.R., Adelye I. (2002). Effects of cultivars on ensiling characteristics, chemical composition, and ruminal degradability of pea silage. *J. Dairy Sci.* 85:3411–3419.
76. Nadeau E., (2007). Effects of plant species, stage of maturity and additive on the feeding value of whole-crop cereal silage. *J. Sci. Food Agric.* 87:789–801.
77. Nozière P., Michalet-Doreau B., 2000. In Sacco methods. En: D’Mello, J.P.F., *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. CAB International, Ed.Oxon, UK, pp. 233–253.
78. Ohshima M., McDonald P. (1978). A review of the changes in nitrogenous compounds of herbage during ensilage. *J. Sci. Food Agric.* 29:497–505.
79. Ørskov E.R., McDonald I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci.* 92:499–503.
80. Peyrat J., Nozière P., Le Morvan A., Féraud A., Protin P.V., Baumont R. (2014). Effects of ensiling maize and sample conditioning on *in situ* rumen degradation of dry matter, starch and fibre. *Anim. Feed Sci. Technol.* 196:12–21.
81. Repetto J.L., Cajarville C., D’Alessandro J., Curbelo A., Soto C., Garín D. (2005). Effect of wilting and ensiling on ruminal degradability of temperate grass and legume mixtures. *Anim. Res.* 54:73-80.

82. Repetto J.L., Britos A., Errandonea N., Cozzolino D., Cajarville C. (2006). Effect of harvest schedule and plant part on *in vitro* gas production of temperate forages. *J.Dairy Sci.* 89 (Suppl. 1):102.
83. Repetto J.L., Echarrri V., Aguerre M., Cajarville C. (2011). Use of fresh cheese whey as an additive for Lucerne silages: Effects on chemical composition, conservation quality and ruminal degradation of cell walls. *Anim. Feed Sci. Technol.* 170:160-164.
84. Ribeiro G.O., Teixeira A.M., Velasco F.O., Faria W.G., Pereira L.G.R., Chaves A. V., Goncalves L.C., McAllister T.A. (2014). Production, nutritional quality and *in vitro* methane production from *Andropogon Gayanus* grass harvested at different maturities and preserved as hay or silage. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 27:330–341.
85. Robertson J.B., Van Soest P.J. (1981). The detergent system of analysis and its application to human, in: James, W.P.T., Theander, O. (Eds.), *The Analysis of Dietary Fiber in Food*. Marcel Dekker, pp. 123–158.
86. Rooke J.A., Hatfield R.D. (2003). *Biochemistry of Ensiling*. En: Buxton D.R., Muck R.E, Harrison J.H (2003) *Silage Science and Technology*. Ed. Am. Soc. Agron., Crop Sci. Soc. Am., Soil Sci. Soc. Am., Madison, Wisconsin, USA, Cap. 3, pp. 95–135.
87. Rustas B.-O., Nadeau E., Johnsson S. (2009). Effect of stage of maturity of whole-crop barley on intake and liveweight gain by dairy steers differing in initial live weight. *Grass Forage Sci.* 64:227–235.
88. Sarmadi B., Rouzbehan Y., Rezaei J. (2016). Influences of growth stage and nitrogen fertilizer on chemical composition, phenolics, *in situ* degradability and *in vitro* ruminal variables in amaranth forage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 215:73–84.
89. Seguin P., Mustafa A.F. (2003). Chemical composition and ruminal nutrient degradabilities of fresh and ensiled Kura clover (*Trifolium ambiguum* MB). *Can. J. Anim. Sci.* 83:577–582.
90. Seguin P., Mustafa A.F., Donnelly D.J., Gélinas B. (2013). Chemical composition and ruminal nutrient degradability of fresh and ensiled amaranth forage. *J. Sci. Food Agric.* 93:3730–3736.
91. Slottner D., Bertilsson J. (2006). Effect of ensiling technology on protein degradation during ensilage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 127:101–111.
92. Udén P., Robinson P.H., Mateos G.G., Blank R. (2012). Use of replicates in statistical analyses in papers submitted for publication in *Animal Feed Science and Technology*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 171:1–5.
93. Voelker H.H., Stake P.E., Owens M.J., Schingoethe D.J. (1977). Oatlage versus oats, barley, and wheat combination silages for dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 60: 1083–1087.
94. Wallsten J., Bertilsson J., Nadeau E., Martinsson K. (2010). Digestibility of whole-crop barley and oat silages in dairy heifers. *Animal* 4: 432–438.
95. Wallsten J., Martinsson K. (2009). Effects of maturity stage and feeding strategy of whole crop barley silage on intake, digestibility and milk production in dairy cows. *Livest. Sci.* 121:155–161.
96. Wallsten J., Nadeau E., Bertilsson J., Martinsson K. (2009). Voluntary intake and diet selection by dairy heifers fed ensiled whole-crop barley and oats harvested at different stages of maturity. *Livest. Sci.* 122:94–98.
97. Weinberg Z.G., Ashbell G. (2003). Engineering aspects of ensiling. *Biochem. Eng. J.* 13:181–188.



98. Weinberg Z.G., Ashbell G., Hen Y., Harduf Z. (1991). Ensiling whole wheat for ruminant feeding at different stages of maturity. *Anim. Feed Sci. Technol.* 32:313–320.
99. Yu P., Christensen D.A., McKinnon J.J. (2004). *In situ* rumen degradation kinetics of timothy and alfalfa as affected by cultivar and stage of maturity. *Can. J. Anim. Sci.* 84:255–263.
100. Zadoks J.C., Chang T.T., Konzak C.F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res.* 14:415–421.



## ACTA DE EXAMEN

**CURSO:** Defensa de Tesis de Maestría

**LUGAR Y FECHA DE LA DEFENSA:** Montevideo, 4 de noviembre de 2016

**TRIBUNAL:** Dres. Analía Pérez Ruchel (Presidente), Javier Baudracco, José María Arroyo

CI ESTUDIANTE	NOMBRE	CALIFICACIÓN	NOTA
4.472.060-8	STIRLING SANTOS, María Sofia	S.S.S	12

PRESENTADOS	NO PRESENTADOS	APROBADOS	APLAZADOS	INSCRIPTOS
1	0	1	0	1

**TRIBUNAL**

**FIRMA**

Dra. Analía Pérez Ruchel (Presidente)

Dr. Javier Baudracco

Dr. José María Arroyo

**NOTA:** La calificación mínima para aprobar el examen es B.B.B (6)