UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Consumo, digestibilidad de nutrientes y producción de leche en vacas lecheras en lactancia media alimentadas con dietas mixtas (pastura + ración totalmente mezclada)

Por

DONADIO BARRAGUE, Nicolás

MOREIRA NUÑEZ, Santiago

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

MODALIDAD: Ensayo Experimental

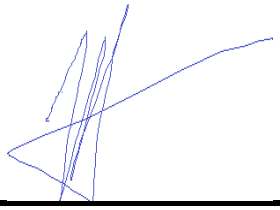
MONTEVIDEO
URUGUAY
2026

Tesis de grado aprobada por:



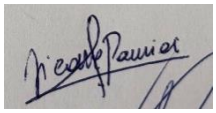
Presidente de mesa:

PhD. Alvaro Santana



Segundo miembro (Tutor):

PhD. Gonzalo Fernandez Turren



Tercer miembro:

MSc. Nicolle Pomiés

11/11/2025

Fecha:



Autores:

Nicolás Donadío



Santiago Moreira

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, queremos agradecer a nuestras familias por brindarnos la oportunidad de estudiar y el aguante de todos estos años de carrera.

Un especial agradecimiento al grupo humano que se formó en el trabajo de campo conformado por Jose Luis, Josefina, Diego, Guido y Juan, ya que sin ellos las actividades hubiesen sido muy difíciles de llevar a cabo.

El grupo desea agradecerle a nuestro tutor Gonzalo Fernández Turren y cotutores Cecilia Cajarville y José Luis Repetto, por estar presente en todo el proceso y el apoyo constante.

A Walter y Yanela por su paciencia y buena onda.

A los integrantes del laboratorio por la orientación brindada.

TABLA DE CONTENIDO

Pág.

RESUMEN…… 7

SUMMARY…… 8

1. INTRODUCCIÓN…… 9

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA…… 10

2.1. Estrategias nutricionales para vacas lecheras…….. 10

2.1.1 Sistemas pastoriles…….. 10

2.1.2 Sistemas de ración totalmente mezclada (RTM)…… 11

2.1.3 Sistemas que combinan RTM y pastura fresca…….. 12

2.2. Factores que afectan el consumo y la digestibilidad de nutrientes…… 13

2.2.1 Consumo en vacas lecheras…….. 13

2.2.2 Digestibilidad de nutrientes en vacas lecheras…….. 14

3. HIPÓTESIS…… 18

4. OBJETIVOS…… 19

4.1. Objetivo general…….. 19

4.2. Objetivos específicos…… 19

5. MATERIALES Y MÉTODOS…… 20

5.1. Animales, diseño experimental y alimentos…….. 20

5.1.1 Manejo de los animales y de la alimentación…….. 24

5.2. Determinaciones (período de mediciones)…… 24

5.2.1 Consumo de nutrientes…….. 24

5.2.2 Digestibilidad de nutrientes…….. 25

5.2.3. Producción y calidad de la leche…… 25

5.3. Análisis químicos…… 26

5.4. Análisis estadísticos…….. 26

6. RESULTADOS…… 27

7. DISCUSIÓN…… 31

8. CONCLUSIONES…… 33

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS…… 34

LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Composición química de la alfalfa fresca, de la RTM y de los ingredientes utilizados en los dos períodos experimentales……..... 22

Tabla 2. Consumo de materia seca (Kg/d) en vacas lecheras alimentadas con una dieta 100% RTM (T100) o 60% RTM y alfalfa fresca a voluntad (T60)…..... 27

Tabla 3. Consumo de nutrientes (Kg MS/d) de vacas lecheras alimentadas con una dieta 100% RTM (T100) o 60% RTM y alfalfa fresca a voluntad (T60). …..... 28

Tabla 4. Coeficiente de digestibilidad de nutrientes en vacas lecheras alimentadas con una dieta 100% RTM (T100) o 60% RTM y alfalfa fresca a voluntad (T60)..... 29

Tabla 5. Producción de leche en vacas lecheras alimentadas con una dieta 100% RTM (T100) o 60% RTM y alfalfa fresca a voluntad (T60)……..... 30

LISTA DE ABREVIATURAS

CMS	Consumo de materia seca
CNF	Carbohidratos no fibrosos
DEL	Días en leche
ED	Energía digestible
EE	Extracto etéreo
EM	Energía metabolizable
FAD	Fibra ácido detergente
FND	Fibra neutro detergente
MS	Materia seca
N	Nitrógeno
NIDA	Nitrógeno insoluble en solución detergente ácida
NIDN	Nitrógeno insoluble en solución detergente neutra
PB	Proteína bruta
PV	Peso vivo
RPM	Ración parcialmente mezclada
RTM	Ración totalmente mezclada

RESUMEN

La intensificación de la producción lechera ha generado nuevas estrategias de alimentación como el uso de ración totalmente mezclada (RTM) con o sin acceso al pastoreo, con el fin de mejorar los costos de alimentación y las propiedades nutraceúticas de la leche. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la sustitución parcial de una RTM por alfalfa fresca sobre la producción de leche, el consumo y la digestibilidad de nutrientes en vacas lecheras de lactancia media en verano. Se utilizaron 12 vacas en un diseño cruzado “crossover” con dos períodos experimentales (21 días de adaptación y 8 días de mediciones) durante 58 días. Los animales fueron asignados a uno de dos tratamientos (6 vacas/tratamiento): **T100**: 100% RTM, y **T60:** 60% RTM y alfalfa fresca a voluntad. En ambos tratamientos, la RTM fue suministrada en comederos individuales, mientras que en T60 la alfalfa fresca fue pastoreada en forma directa en parcelas individuales. El consumo de nutrientes fue estimado por la diferencia entre el alimento ofrecido y rechazado. La cantidad diaria de excreción fecal se determinó de manera indirecta utilizando la fibra ácido detergente indigestible (FADi) como marcador interno. La digestibilidad de nutrientes se estimó por la siguiente ecuación: Digestibilidad = Consumo – heces / Consumo. Los datos fueron analizados a través de un análisis de varianza usando el procedimiento MIXED de SAS. El consumo de MS de RTM y alfalfa fue menor en T60 con respecto a T100 ($P < 0,001$). A su vez, el consumo de FND, FAD y PC fue menor en el T60 con respecto a T100 ($P < 0,001$). Se observó que la digestibilidad de nutrientes (MS, MO, PC, FDN) fue mayor en T60 con respecto a T100 ($P < 0,001$). Únicamente se observó una diferencia entre periodos para la digestibilidad de la proteína cruda ($P = 0,022$), con una mayor digestibilidad en P2 con respecto al P1. No se observaron diferencias en la producción y composición de leche. En base a los resultados obtenidos en el presente estudio, podemos establecer que la inclusión de alfalfa fresca a voluntad afectó el consumo de nutrientes, pero incrementó la digestibilidad de la dieta, sin afectar negativamente la producción de leche en vacas de lactancia media en verano.

SUMMARY

The intensification of dairy production has led to the development of new feeding strategies, such as the use of Total Mixed Ration (TMR) with or without grazing access, aiming to improve feeding costs and the nutraceutical properties of milk. The objective of the present study was to evaluate the effect of partially replacing a TMR with fresh alfalfa on milk production, nutrient intake and digestibility in dairy cows. Twelve cows were used in a crossover design with two experimental periods (21 days of adaptation and 8 days of measurements) over a total of 58 days. Animals were assigned to one of two treatments (6 cows per treatment): **T100:** 100% TMR, and **T60**: 60% TMR plus *ad libitum* access to fresh alfalfa. In both treatments, TMR was offered in individual feeders, whereas in T60, fresh alfalfa was directly grazed in individual plots. Nutrient intake was estimated as the difference between feed offered and feed refused. Daily fecal output was determined by using indigestible acid detergent fiber (iADF) as an internal marker. Nutrient digestibility was estimated using the following equation: Digestibility = (Intake – Fecal output) / Intake. Data was analyzed by analysis of variance using the MIXED procedure of SAS. Dry matter intake (DMI) from TMR and alfalfa was lower in T60 compared to T100 ($P < 0.001$). Similarly, intake of neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), and crude protein (CP) was lower in T60 than in T100 ($P < 0.001$). Nutrient digestibility (DM, OM, CP, NDF) was higher in T60 compared to T100 ($P < 0.001$). A period effect was observed only for crude protein digestibility ($P = 0.022$), with greater digestibility in period 2 compared to period 1. No differences were observed in milk production or milk composition. Based on the results obtained in the present study, we can conclude that the inclusion of ad libitum fresh alfalfa affected nutrient intake but increased diet digestibility without negatively impacting milk production dairy cattle in mid-lactation in summer.

1. INTRODUCCIÓN

La producción lechera en Uruguay se sustenta principalmente sobre sistemas pastoriles debido a las condiciones climáticas y edáficas que favorecen la producción y el aprovechamiento de las pasturas en forma directa todo el año. La inclusión de pasturas de alta calidad representa una proporción importante de la dieta en estos sistemas, lo que es considerado a nivel internacional como un factor determinante para la mejor relación costo/beneficio (Dillon, 2006; Soder & Muller, 2007). A su vez, el consumo de pastura fresca en la dieta de vacas lecheras determina una mejor calidad nutricional del producto final, lo que favorece la salud humana debido al perfil de ácidos grasos en la leche (Kelley et al., 2007).

Una alternativa a los sistemas pastoriles, son los sistemas que utilizan raciones totalmente mezcladas (RTM). En estos sistemas se suministran los concentrados y forrajes completamente mezclados en una ración única. Esto permite ofrecer la dieta con una buena relación forraje concentrado aumentando el consumo de materia seca (MS) y la producción, con mínima posibilidad de selección de los componentes individuales de la RTM (Pastorini, 2016; Soder & Muller, 2007). Sin embargo, estos sistemas de producción en confinamiento no permiten el acceso al forraje fresco, lo que es una limitante para sistemas basados en el pastoreo, como los sistemas lecheros de nuestro país.

Como estrategia para alcanzar los altos niveles productivos obtenidos en los sistemas RTM y los beneficios de la inclusión de pasturas frescas, desde hace varios años se viene trabajando en la combinación de pastura y RTM, denominadas raciones parcialmente mezcladas (RPM), debido a que la pastura fresca no es parte integral de la RTM, sino que se suministra aparte (Pastorini, 2016; Soder & Muller, 2007). Algunos estudios recientes indican que la utilización de una RPM permitiría alcanzar o incluso superar tanto el consumo, como la producción de leche logrados por vacas que consumen solamente RTM (Mendoza, 2016; Vibart et al., 2008). Sin embargo, aún no están claros los niveles de pastura fresca que pueden ser incluidos en las dietas RPM que permitirían lograr los beneficios de las pasturas sin afectar la producción de leche respecto a sistemas confinados con RTM en vacas de lactancia media en verano.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

En la última década la producción lechera en nuestro país experimentó una serie de cambios desde el punto de vista de la producción. Se vio un incremento en la producción lechera, pero con un descenso en el área destinada a dicho rubro debido a la competencia con otras actividades agropecuarias, acompañado de una disminución del número de productores y de cabezas de ganado (Aguerre et al., 2017; Couto et al., 2021). Estos datos reflejan la alta productividad individual del rodeo lechero del país, así como la intensificación del rubro.

El crecimiento productivo se vio reflejado en una mayor producción por hectárea, ya que según el Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (2015), este suceso se logró con una mayor carga animal por hectárea y con un aumento en la suplementación (reserva forrajera y concentrado). De todos modos, los tambos uruguayos siguen teniendo una fuerte influencia en el uso pastoril, ya que según Chilibroste y Battegazzore (2014) la pastura conforma entre el 48% al 54% de la dieta de los animales, parámetro que es muy importante debido a que las pasturas utilizadas correctamente son el alimento más económico (Dillon, 2006).

Uruguay es el séptimo exportador de productos lácteos a nivel mundial, exportando el 70% de lo producido, pero debido a que el volumen exportado es muy pequeño a nivel mundial, nuestro país es tomador de precios lo que obliga al sector a incrementar la producción por unidad de superficie (Giudice et al., 2021). En base a esta particularidad del sector lechero uruguayo, se han evaluado diferentes estrategias nutricionales, buscando destacar la calidad del producto. A continuación, se detallan las principales estrategias nutricionales utilizadas en los sistemas lecheras nacionales.

2.1. Estrategias nutricionales para vacas lecheras

En la siguiente sección se analizan diferentes estrategias nutricionales utilizadas en los sistemas de producción lechera (sistemas pastoriles, RTM y la combinación de ambas).

2.1.1 Sistemas pastoriles

La alimentación con base pastoril en vacas lecheras está muy extendida en distintos países como Nueva Zelanda, Australia, Argentina, Chile, Irlanda y Uruguay, entre otros. Generalmente, se trata de países que presentan ventajas climáticas que les permite la producción sobre pasturas durante gran parte del año. Estos sistemas se basan en la recolección de pastura por parte del bovino como principal componente de la dieta. Los principales beneficios de estos sistemas están relacionados al bienestar animal, en contraposición con los sistemas de confinamiento (Rushen et al, 2008). A la vez que presentan ventajas comparativas relacionadas a un menor costo relativo respecto a otros insumos como los forrajes conservados o los concentrados (Dillon, 2006).

Diferentes estudios han reportado que el uso de forrajes en estado vegetativo temprano lograría cubrir una gran parte de los requerimientos nutricionales necesarios

para obtener altas producciones. Sin embargo, un estado vegetativo avanzado podría limitar el aporte de nutrientes necesarios para cubrir los requerimientos energéticos. Esta variabilidad en la calidad de la pastura es una de las grandes limitantes de estos sistemas, sobre todo vinculado al efecto sobre el consumo de MS (Rebuffo et al., 2000). La suplementación con concentrados ha sido una herramienta muy utilizada por los sistemas pastoriles, para alcanzar los requerimientos que permitan explotar completamente el potencial genético de los animales (Kolver, 2003). Las limitantes sobre el consumo se deben principalmente a restricciones físicas (digestión y pasaje de material por el tracto digestivo), tiempo invertido en traslado de los animales, búsqueda del alimento, recolección, tiempo de rumia y en muchos casos el alto contenido de agua de la pastura que hace muy poco eficiente la cosecha de MS de cada bocado (Chilibroste & Battegazzore, 2014; Dillon, 2006). Otra particularidad, es el efecto de la selectividad animal durante el pastoreo, a diferencia de dietas RTM donde se logra disminuir este factor (Kolver & Muller, 1998; Kolver, 2003).

A pesar de las limitantes mencionadas, las pasturas son la base de los sistemas de producción de leche de nuestro país y la región, debido principalmente a la mejor relación costo/beneficio. A su vez, la leche producida en sistemas pastoriles presenta un producto final de mejor calidad nutracéutica para el consumo humano (mejores niveles de ácido linoleico conjugado), tanto en la leche como en la carne (Aurousseau et al., 2007; Lourenço etal, 2008). De todos modos, los sistemas pastoriles con o sin suplemento son altamente vulnerables a distintos factores ambientales y de manejo, por lo que resulta relevante avanzar en estrategias que permitan potenciar el consumo de pasturas sin afectar el nivel productivo.

2.1.2 Sistemas de ración totalmente mezclada (RTM)

Los sistemas de alimentación basados en RTM son ampliamente usados y recomendados por países del hemisferio norte, principalmente en países donde las condiciones climáticas no permiten la cosecha de la pastura en forma directa por los animales durante gran parte del año (Cajarville et al., 2012; Mendoza, 2016; Soder & Muller, 2007). En este sistema, los alimentos concentrados y forrajes son ofrecidos a los animales completamente mezclados en una única ración (Pastorini, 2016).

La oferta de la dieta de manera más precisa es una de las principales ventajas de este sistema, debido a que baja la posibilidad de selección de los alimentos, obteniendo más control del balance de los nutrientes, con una óptima relación forraje/ concentrado (Mendoza, 2016). A su vez, el consumo de MS total en dietas RTM sería mayor con respecto a dietas que incluyen forraje fresco (Bargo et al, 2003; Bargo et al., 2002a; Chilibroste, 2012; Mendoza, 2016). En instancias tempranas de lactancia donde se ha visto que el consumo de alimento por animal es bajo con respecto a los niveles de energía requeridos, la utilización de estos sistemas es de gran ayuda debido a que las RTM permiten aportar en pequeños volúmenes gran cantidad de proteína y energía (Chilibroste, 2012).

Desde el punto de vista de los productores el uso de RTM puede traer aparejados desafíos económicos a corto y mediano plazo. Esto es debido a que para implementar

este sistema se necesita una importante inversión inicial en infraestructura y maquinaria, y a largo plazo implica mayor costo en mano de obra capacitada (Civiero et al., 2021; Soriano, Polan & Miller, 2001). A su vez, la tendencia a un mayor consumo de granos en la población, sumado a la elaboración de biocombustibles está disminuyendo la disponibilidad de los granos para la alimentación de los animales. Esto genera una fuerte competencia en los precios de mercado a los que el productor debe enfrentarse. En lo que refiere al bienestar animal estos sistemas están bastante cuestionados, no solo por el confinamiento que implica, sino que sanitariamente se ha reportado mayor incidencia en casos de mastitis y problemas podales (Charlton et al., 2011).

2.1.3 Sistemas que combinan RTM y pastura fresca

En los últimos años ha surgido un notable interés por incluir pasturas en la dieta de vacas lecheras, a través de la incorporación de sistemas de alimentación de RPM como alternativa a los sistemas de alimentación anteriormente mencionados (Soder & Muller, 2007). Esta combinación de RTM y pastura fresca busca potenciar las ventajas de los dos sistemas, obteniendo altas producciones con un producto final de buena calidad nutraceútica y con menor riesgo económico.

A nivel internacional, se reportan varios trabajos evaluando el uso de RPM en comparación con otras estrategias (Bargo, et al., 2002a; Bargo et al., 2002b). En este sentido, (Bargo et al., 2002a) observaron que las vacas alimentadas con RTM produjeron mayor cantidad de leche, grasa y proteína, asociado a un mayor consumo de energía, mientras que la dieta de pastura con concentrado produjo menos, siendo el tratamiento RPM en el que se obtuvieron resultados intermedios. Por otra parte, (Vibart et al., 2008) reportaron que con un aumento en la proporción de raigrás anual (21% a 41%) en estado vegetativo en una dieta de tipo RTM no se vio afectada la producción de vacas lecheras. Caso contrario ocurrió con la misma pastura, pero en un estado más avanzado de madurez y con menor calidad, el aumento de su proporción de 11% a 35% redujo el consumo total de MS, la producción de leche y proteína. Por su parte, Morales et al. (2010) compararon el uso de una dieta RTM con distintos tiempos de acceso a una pastura de gramíneas y leguminosas, concluyendo que el consumo de pastura aumentó y el de RTM disminuyó a mayor tiempo de acceso a la pastura, no habiendo diferencias en consumo total de MS entre tratamientos.

A nivel nacional se viene investigando estos sistemas con el fin de explotar su potencialidad productiva en nuestro país, buscando niveles productivos similares a los obtenidos en vacas alimentadas únicamente con RTM, pero maximizando la inclusión de pastura (Aguerre et al., 2017; Chilibroste, 2012; Mendoza, 2016; Pastorini, 2016; Pomiés, 2014; Santana et al. (2023). Estos autores en sus respectivos experimentos utilizaron al menos 3 tratamientos, teniendo una alimentación 100% RTM, otro grupo alimentado con dietas RPM (pastura y RTM, con diferentes proporciones y/u horarios) y un tercer grupo alimentado con pastura y en algunos casos suplementados con concentrado. Los resultados reportados indicaron que el consumo de MS fue mayor en las vacas alimentadas únicamente con RTM, seguidas por aquellas alimentadas con dietas RPM. En cambio, la producción de leche fue menor en las vacas con mayor

proporción de pastura en contraposición con las alimentadas únicamente con RTM. En este sentido, el nivel de inclusión de pastura, parecería ser el desafío planteado, ya que se ha observado que niveles de incorporación de pastura del 50% en vacas de alta producción presentaron repercusiones negativas sobre la producción láctea. Sin embargo, niveles de incorporación de 30% mostraron resultados positivos (Pastorini et al., 2019).

Como es sabido, las diferencias en el contenido de nutrientes y las características morfológicas de las especies de plantas, así como la preferencia de los animales, afectan su ingestión, el comportamiento alimenticio y los procesos digestivos. En general, las vacas lecheras lactantes alimentadas con dietas a base de gramíneas tienen menor CMS y producción de leche que las vacas alimentadas con dietas a base de leguminosas. En este sentido, resultados reportados por Santana et al. (2023) constituyen antecedentes alentadores para pensar en incluir leguminosas de alta calidad como la alfalfa en dietas combinadas con RTM.

2.2. Factores que afectan el consumo y la digestibilidad de nutrientes

El consumo y la digestibilidad de nutrientes son determinantes de la producción de leche. A continuación, se detallan los principales factores que inciden sobre el consumo y la digestibilidad de la dieta en vacas lecheras.

2.2.1. Consumo en vacas lecheras

El consumo de nutrientes es uno de los factores que limita en mayor medida la productividad (Roche et al., 2008). Según Crampton et al., (1960) y Dynes (1996) la variación en el consumo de nutrientes digestibles está explicada en un 60 a 90% por el consumo voluntario de alimento, y solo 10 a 40% por cambios en la digestibilidad de este. Por estas razones, es importante conocer los factores involucrados en la regulación del consumo voluntario de las vacas lecheras, para la correcta formulación de las raciones de los animales. En este sentido, se han desarrollado distintas teorías para explicar cómo se regula el consumo voluntario en las vacas lecheras, estas hacen referencia a una regulación de tipo física (en la que están implicados factores vinculados principalmente con el alimento) y otra fisiológica (donde los factores involucrados están relacionados con el animal). De acuerdo con la regulación física, el consumo voluntario del rumiante está limitado por la capacidad del tracto digestivo (en particular del rumen) para almacenar y permitir el pasaje de la digesta, y este efecto es tanto más marcado cuanto menor sea la calidad del alimento (Allen, 1996). En la medida que el rumiante consume alimento, las paredes del rumen se distienden estimulando una serie de receptores allí localizados que envían señales al sistema nervioso, lo que lleva al cese del consumo. Por este motivo la digestión del alimento consumido (principalmente la fracción fibrosa) definen la duración con que ocurre la evacuación de la digesta desde el rumen, permitiendo que el animal vuelva a consumir alimento.
Por su parte, Allen, (2000) propuso que el consumo estaría regulado por cambios en la concentración o flujos de distintas sustancias como consecuencia de la ingesta de alimentos; dichos cambios estimularían distintos receptores que enviarían señales a

los centros de saciedad a nivel del sistema nervioso y causarían el cese del consumo. Otros autores, como Roche et al., (2008) mencionan sustancias como metabolitos y hormonas, que son secretadas por el animal pudiendo impactar a nivel del sistema nervioso, donde algunas tienen un efecto estimulante sobre el consumo voluntario, mientras que otros tienen el efecto opuesto. Por ejemplo, dentro de las primeras se encuentra la hormona ghrelina o el neuropéptido Y, mientras que dentro de las segundas se encuentran distintos ácidos grasos volátiles (AGV) como el ácido acético y propiónico, sustancias nitrogenadas como el amoníaco, u hormonas como la colecistoquinina o la leptina.
Por otra parte, otros autores plantean que el consumo de los animales estaría regulado por distintos factores no excluyentes y no por un único factor. Por ejemplo, Forbes (2007) propuso una teoría multifactorial del control del consumo de rumiantes denominada del "mínimo disconfort total", según la cual los animales consumen alimentos con el objetivo de minimizar las desviaciones entre los nutrientes que requieren y los que les son aportados por la dieta (tanto por exceso como por carencia). El autor menciona que además de los factores físicos y metabólicos, la habilidad sensorial y los factores psicológicos del animal pueden contribuir en distinto grado a regular el consumo en los rumiantes. Por ejemplo, se sabe que los rumiantes son capaces de aprender a asociar las propiedades sensoriales de un alimento con las consecuencias metabólicas de consumir dicho alimento, tanto favorables (i.e. aporte de nutrientes deficitarios en la dieta) como desfavorables (i.e. presencia de toxinas), y que desde este punto de vista son capaces de seleccionar entre distintos alimentos, o dentro de un mismo alimento.

Además de los factores antes mencionados, en animales a pastoreo se le suman otros factores. Por ejemplo, la altura y la densidad de la pastura o altura de inserción de las vainas que puede afectar el consumo de los animales fundamentalmente por el tiempo que el animal dedica a pastorear y/o la tasa de consumo que resulta de la integración de la tasa de bocado y del peso de bocado (Chilibroste et al., 2005). No necesariamente la regulación del consumo está dada por el estado físico de la pastura, sino que también en animales que se alimentan con pasturas templadas de alta calidad, factores como un alto contenido de humedad o elevadas concentraciones de productos de la fermentación pueden provocar el cese de la ingesta (Chilibroste et al., 2005).

2.2.2. Digestibilidad de nutrientes en vacas lecheras

El aparato digestivo de los rumiantes consta de 3 pre-estómagos (rumen, retículo y omaso), que preceden al abomaso o estómago verdadero. En el retículo y el rumen habita una gran población microbiana, compuesta por bacterias, protozoarios, hongos y arqueas. Esta microbiota puede ser clasificada según el sustrato que degradan preferentemente, pueden dividirse en microorganismos celulolíticos, amilolíticos o proteolíticos. Otra forma de clasificarlos es en función del estrato que ocupan dentro del rumen, hay microorganismos que están adheridos a las partículas de alimento (75% del total), que están libres en la fase líquida, o adheridos a la pared ruminal (Van Soest, 1994). Los microorganismos ruminales viven en simbiosis con el huésped, para que esto suceda se requiere condiciones de anaerobiosis, temperatura, acidez y humedad, así como la provisión de sustratos capaces de nutrir a los microorganismos. Son necesarios mecanismos de remoción de sustancias tóxicas o desecho los cuales

suceden por absorción a través de la pared ruminal o del pasaje de la digesta hacia el tracto posterior (Van Soest, 1994). Posterior a la ingesta los alimentos son masticados, siendo hidratados y reduciendo el tamaño de partículas que continúan siendo reducidas a través de la rumia logrando aumentar la superficie de exposición de las partículas de los alimentos para los microorganismos, favoreciendo su colonización. La reducción en el tamaño de las partículas facilita el pasaje del alimento por el orificio reticulo-omasal y del tracto posterior donde ocurrirá la digestión (Welch & Hooper, 1993).

Por otro lado, los rumiantes adquieren gran parte de los nutrientes que necesitan para llevar a cabo sus distintas funciones a través de la actividad de la microbiota ruminal, la cual tiene la capacidad para convertir compuestos de baja calidad en nutrientes con alto valor biológico para los animales. Por ejemplo, una gran parte de la dieta de los rumiantes está compuesta por forrajes, los cuales presentan un alto contenido de carbohidratos fibrosos presentes en las paredes celulares. Estos carbohidratos incluyen a la celulosa y la hemicelulosa, que son polímeros complejos de glucosa unidos por enlaces β 1-4 para los cuales los rumiantes no poseen enzimas endógenas capases de hidrolizarlos, pero los microorganismos ruminales si poseen la capacidad para fermentarlos. A través de la fermentación de los carbohidratos se generan productos de desecho como los AGV de cadena corta, los cuales son el resultado del metabolismo de los microorganismos. Estos productos de desecho son absorbidos a través de la pared ruminal, pudiendo ser metabolizados en los distintos tejidos de los animales para aportar entre un 60 y 70 % del total de energía metabolizable requerida por los rumiantes (Van Soest, 1994). De la fermentación de los carbohidratos fibrosos (celulosa y hemicelulosa) se obtiene como resultado una producción proporcionalmente mayor de ácido acético y butírico, de la fermentación de los carbohidratos no fibrosos como el almidón se obtiene una mayor proporción en la producción de ácido propiónico. Para bovinos que consumen diferentes dietas la concentraciones promedios de ácido acético, propiónico y butírico, expresadas como porcentaje de la concentración total de AGV es 63,1, 21,4 y 11,5%, respectivamente (Nozière et al., 2011).

La digestión de los carbohidratos fibrosos es particularmente sensible a los cambios en el pH ruminal. Es aceptable que caídas del pH por debajo de 6,2 reduzca la digestibilidad de la fibra a consecuencia de una menor actividad de las bacterias celulolíticas (Hoover, 1986). En otros trabajos se ha indicado que la digestibilidad de diferentes forrajes puede verse reducida cuando la caída del pH es por debajo de 6,0 o 6,1, aunque el valor critico dependería de la calidad del forraje (Mould et al., 1983). Estas observaciones han sido llevadas a cabo usando forrajes secos y de calidad media a baja, pero en diferentes trabajos realizados in vitro e in vivo con pasturas de alta calidad demuestran que la digestión de la fibra se reduce con valores en el pH de 5,8, los cuales serían menores a los valores indicados tradicionalmente (de Veth & Kolver, 2001; Wales et al., 2004). Teniendo en cuenta que la fermentación de los carbohidratos no fibrosos es energéticamente más eficiente que la de los carbohidratos fibrosos, los primeros tienen una mayor tasa de producción de AGV, lo que lleva a tener en cuenta que dietas con altas proporciones de concentrados pueden llevar a una marcada disminución en el pH ruminal debido a la acumulación de AGV, favoreciendo la proliferación de microorganismos acido-tolerantes como *Streptococcus bovis* el cual conduce a un aumento en la producción de ácido láctico

ocasionando que el pH descienda aún más, llevando a un cuadro de acidosis clínica (Calsamiglia et al.,2012).

De los carbohidratos que arriban al duodeno, que no fueron fermentados en el rumen el almidón es la única fracción que puede ser absorbida en intestino delgado debido a la acción de la amilasa pancreática y de las disacaridasas intestinales. La fracción de almidón que no es degradada en rumen depende de la cantidad, la forma física, de la estructura química del almidón ingerido. Por otra parte, el almidón que llega sin degradar al intestino delgado puede ser fermentado en el intestino grueso, pero los AGV producidos no son absorbidos por lo tanto no son aprovechados por el animal (Reynolds, 2006).

Para sintetizar sus proteínas los microrganismos de rumen utilizan distintas fuentes de energía como el nitrógeno amoniacal ($N\text{-}NH_3$), el cual es un producto final del catabolismo de aminoácidos, péptidos y sustancias nitrogenadas no proteicas presentes en los alimentos ingeridos. Concentraciones de 5 mg/dL permiten maximizar la eficiencia en la síntesis de proteína microbiana (Russell & Strobel, 1987). La proteína que se libera del rumen y alcanza el abomaso es descompuesta por el jugo gástrico (ácido clorhídrico y pepsina), y posteriormente digerida en el intestino delgado mediante enzimas pancreáticas como la tripsina y quimiotripsina, además de diversas peptidasas producidas por la mucosa intestinal. Los aminoácidos resultantes son absorbidos a través de transportadores activos específicos (Sutton & Reynolds, 2011). En el caso de los rumiantes, la proteína que llega al duodeno comprende la proteína microbiana, la proteína proveniente de la dieta que no fue degradada en el rumen, y la proteína endógena del propio animal. La proteína microbiana es crucial ya que, al pasar junto con el bolo alimenticio a las secciones posteriores del sistema digestivo, constituye la principal fuente de aminoácidos para el animal. Esta proteína no solo proporciona típicamente más de la mitad de los aminoácidos necesarios para los rumiantes, sino que también tiene un alto valor biológico.

Las pasturas templadas ya sean mezcla de gramíneas y leguminosas o verdeos son ricas en N. Cuando el rumiante las ingiere generan elevadas concentraciones instantáneas de amoniaco ($N\text{-}NH_3$) debido al proceso de degradación ruminal (Khalili y Sairanen 2000; Cajarville *et al*., 2006). Gran parte del amoniaco es incorporado por células microbianas del rumen y lo que no es incorporado, es absorbido por el epitelio ruminal ingresando a la circulación portal transformándose en urea en el hígado (Kozloski, 2011). El nitrógeno es excretado primariamente como urea, aproximadamente el 33% es eliminada por orina y el 67% restante vuelve al retículo rumen con la saliva y/o por difusión directa trans epitelial, a través de la sangre que irriga los preestómagos (Kozloski, 2011; Bach *et al*., 2005). La proteína microbiana sintetizada en el rumen representa entre el 50% y el 80% de la proteína total absorbida, siendo la principal fuente de aminoácidos que llega al duodeno. Para una óptima síntesis de proteína microbiana en el rumen, es fundamental lograr un equilibrio mediante la sincronización de carbohidratos y proteínas en el rumen (Hoekstra et al., 2007). La disponibilidad de nutrientes y la eficiencia de los microorganismos ruminales en su utilización son los factores determinantes en la síntesis de proteína microbiana en el rumen (Clark et al., 1992; Bach et al., 2005). Esto

requiere una optimización tanto en las cantidades de carbohidratos y proteínas disponibles, como en sus respectivas tasas de degradación en el rumen (Hoekstra et al., 2007).

El suministro de fuentes proteicas y energéticas con tasas de degradación ruminal similares permitiría que los nutrientes necesarios para la síntesis de proteína microbiana estén disponibles de manera simultánea, evitando ineficiencias en su utilización en el rumen y mejorando la eficiencia de la síntesis de proteína microbiana (ESPM) (Nocek y Russell, 1988; Herrera-Saldana et al., 1990). No obstante, algunos autores cuestionan esta teoría, sugiriendo que el ecosistema ruminal es complejo y que, cuando los nutrientes para la síntesis de una especie microbiana están sincronizados, puede no ocurrir lo mismo para otras especies, lo que podría mantener inalterada la ESPM (Bach et al., 2005). Además, cuando la fuente de nitrógeno no está sincronizada con la de energía, el nitrógeno reciclado que retorna al rumen puede ayudar a estabilizar los niveles de nitrógeno y el crecimiento microbiano en el rumen (Bach et al., 2005; Hall y Huntington, 2008).

En base a la información revisada, resulta necesario profundizar en estudios que permitan aportar información sobre el efecto de la sustitución de RTM por alfalfa fresca sobre el consumo y digestibilidad de nutrientes y su impacto en la producción de leche en vacas de lactancia media en verano.

3. HIPOTESIS

La alfalfa es una leguminosa, por lo que la sustitución parcial de una RTM con alto contenido de silo de pastura por alfalfa fresca a voluntad en las dietas de vacas lecheras de alta producción incrementara la digestibilidad de los nutrientes sin afectar la producción de leche, en virtud a la alta calidad nutricional de la pastura fresca ofrecida.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general:

Evaluar el efecto de la sustitución parcial de RTM por alfalfa fresca sobre el desempeño productivo, el consumo y la digestibilidad de los nutrientes en vacas lecheras de alta producción en lactancia media durante el verano.

4.2. Objetivos específicos:

Estudiar en vacas lecheras el efecto de la sustitución parcial de RTM por alfalfa fresca sobre:

1) la producción de leche y composición de la leche

2) el consumo de materia seca y de los nutrientes

3) la digestibilidad de la materia seca y de los nutrientes

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el Instituto de Producción Animal de la Facultad de Veterinaria (IPAV) y en las instalaciones del Campo Experimental N°2 ubicado en Ruta 1, km 42,5, San José, Uruguay (34º S y 55º O). El periodo experimental trascurrió durante los meses de noviembre, diciembre y enero (2021-2022).

Todos los procedimientos con animales se realizaron bajo la aprobación de la Comisión de ética en el Uso de Animales (CEUA-FVET - Protocolo CHEA Experimento N° 111900-000364-18).

5.1. Animales, diseño experimental y alimentos

Se utilizaron 12 vacas (545 ± 67,2 Kg) de 150 días en leche (DEL) en un diseño experimental cruzado "crossover", el cual consistió en el cruzamiento de los tratamientos posterior al primer período de medición. Previo a cada periodo de medición los animales tenían 21 días de acostumbramiento (a la dieta y al manejo). Se realizaron 2 períodos de medición con una duración de 8 días cada uno.

Los tratamientos experimentales fueron:

- **T100**: 100% RTM.
- **T60**: 60% RTM + alfalfa fresca a voluntad.

Para el ensayo las vacas seleccionadas fueron distribuidas al azar a uno de los dos tratamientos (3 vacas de más 150 DEL y 3 de menos de 150 DEL). Además, había 2 vacas que superaban los 600 Kg de PV a las cuales se les asignó un grupo diferente, con el objetivo de tener un plantel comparativamente homogéneo, quedando una en T60 y la otra en T100.

La RTM fue formulada para producir 30 litros de leche según el programa NRC (2001) considerando el peso promedio de los animales y en el caso de los animales más pesados la oferta fue ajustada según el PV (682 Kg/PV y 616 Kg/PV). La RTM estaba conformada en un 79,5% por silo de pradera, 15,34% de grano húmedo de maíz, 4,13% de harina de soja, 0,24% de bicarbonato de sodio, 0,78% de Premezcla vitamínico-mineral y un 0,007% de Rumensin (Monensina).

La RTM fue suministrada en comederos individuales, a excepción de la oferta de 5,37 kg MS de cascarilla de soja que fue suministrada al momento del ordeñe. En T60, la RTM fue ofrecida al 60% del consumo estimado para cada vaca. La alfalfa fresca fue ofrecida *ad libitum* mediante pastoreo directo en parcelas individuales, considerando el consumo estimado según NRC (2001).

La composición química de la alfalfa fresca, de la RTM y de los ingredientes utilizados para formular la RTM se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química (g/kg MS) de la alfalfa fresca, RTM y de los ingredientes utilizados en los dos períodos experimentales.

	Alfalfa fresca		RTM		Ingredientes de la RTM (valores promedio de ambos periodos)			
	P1	P2	P1	P2	CS	SP	GM	HS
MS (g/kg base fresca)	262	309	432	456	902	379	916	914
MO	866	854	911	915	948	901	984	934
PC	154	159	121	134	126	105	870	486
FND	459	467	539	434	622	484	120	132
FAD	181	159	185	143	224	184	206	484
CNF	242	211	229	320	202	290	746	291
Extracto etéreo	11,4	17,5	23	27	154	229	389	190
NIDN (g/kg N)	33,0	44,0	13,0	18,0	-	-	-	-
NIDA (g/kg N)	51,5	40,9	48	29,2	-	-	-	-

P1: período 1 (6 al 13 de diciembre, 2021); P2: período 2 (5 al 12 de enero, 2022); CS: cascarilla de soja; SP: silo de pastura; GM: grano de maíz; HS: harina de soja.

5.1.1 Manejo de los animales y de la alimentación

La oferta de RTM en las vacas de T100 se realizó dos veces por día (60% del total en la mañana y 40% en la tarde). Al grupo T60 se les ofrecía solamente en el turno de la mañana y en la tarde pastoreaban.

La RTM fue ofrecida a cada vaca en comederos individuales ubicados en cada corral. Durante el período de adaptación T60 pastoreó en parcela única, mientras que durante el período de muestreo se realizaron parcelas individuales (cada día una nueva parcela).

En ambos sitios (corrales y parcela) se disponía de agua fresca a voluntad. Durante el período de mediciones los grupos se manejaban de manera individual, luego de concurrir al ordeñe de la mañana entre las 5:00 a 6:00 h T100 y T60 eran arreadas a los corrales individuales donde a las 7:00 h se les ofrecía el 60% de la RTM de la dieta total. Posteriormente volvían al ordeñe a las 16:00 h, donde T100 regresaba a los corrales y se les volvía a administrar RTM a las 18:00 h, mientras que las vacas de T60 eran trasladadas a la pastura.

La preparación de la RTM se realizaba en dos partes, la primera era la creación de una premezcla y luego se le incorporaba el silo. La premezcla se hacía una vez por semana y se mezclaban (Kg MF) 142 Kg de harina de soja, 530 Kg de maíz, 0,252 Kg de Rumensin, 8,4 Kg de bicarbonato de sodio y 26,88 Kg de premezcla vitamínico-mineral.

Para la elaboración de las parcelas se recorría el potrero atravesándolo de forma diagonal recolectando forraje fresco (5 cm del suelo) en diez puntos distintos utilizando un cuadrado de 0,1 m^2, para calcular la disponibilidad de materia seca (Fariña et al., 2017). De esta manera, se determinaba la conformación de las diferentes parcelas, buscando ofrecer en cada una de ellas 19 Kg MS. La misma fue determinada todos los días en microondas (hasta peso constante). Para el segundo período fue necesario instalar un sistema de riego, debido a la sequía que se presentó por esos días de manera de asegurar la oferta de alfalfa fresca en el segundo período.

5.2. Determinaciones (período de mediciones)

El primer período de mediciones transcurrió desde el 6 al 13 de diciembre del 2021, mientras que el segundo período fue del 5 al 12 de enero del 2022.

5.2.1 Consumo de nutrientes

El consumo de RTM y de alfalfa se evaluó individualmente durante 5 días por oferta y rechazo. Diariamente se pesaron, registraron y tomaron muestras de los alimentos ofrecidos (muestra compuesta) y rechazados de forma individual. Se tomaba muestra de rechazo cuando este superaba el 10% de lo ofrecido. Las muestras obtenidas fueron almacenadas en freezer (-4°C) para su posterior análisis. Para los análisis químicos las mismas eran secadas parcialmente en estufa de aire forzado a 60° durante 48 horas, molidas a un tamaño de malla de 1 mm con el uso de un molino

(Fritsch GmbH, Idar-Oberstein, Birkenfeld, Alemania) y almacenadas en recipientes individuales.

5.2.2 Digestibilidad de nutrientes

La digestibilidad se determinó de manera indirecta utilizando la fibra ácido detergente indigestible (**FADi**) como marcador interno (Huhtanen *et al*., 1994) para estimar la cantidad diaria de materia fecal producida. Para ello se tomaron muestras de heces directamente del recto a partir del día 2 al 4 de cada período experimental con un intervalo de 8 hs entre colecta y posteriormente se congelaron a -20°C hasta su procesamiento. Luego de descongeladas, se secaron en estufa por 48 h a 60°C, posteriormente fueron molidas en molino eléctrico con una zaranda de 1 mm y posteriormente incubadas en bolsas de Dacron (5 x 10 cm, con poros de 50 micrones) en el rumen de 2 vacas secas con fistulas en rumen, alimentadas con una dieta compuesta por silo de pastura (avena y raigrás) *ad libitum* y 1,3 (Kg MF) de harina de soja y 2,7 (Kg MF) de grano de maíz.

Se consideró como FADi al contenido de FAD en el residuo no digerido tras incubación *in situ* de las bolsas por 12 días consecutivos. La producción de heces se calculó de la forma descrita por Merchen (1993) como:

$$\text{kg MS de Heces/día} = \frac{\text{CFADi (g/día)}}{\text{[FADi heces] (g/kg MS)}}$$

donde CFADi es el consumo de FAD indigestible (g/d) y [FADi heces] es la concentración de FAD indigestible en las heces (g/kg MS).

La digestibilidad de los nutrientes (MS, MO, FDN, FDA, PB) se determinó a partir de los análisis de composición química, para lo cual se determinó la concentración de MS, MO, FDN, FDA y PB en los alimentos y en las heces, según se describe más adelante.

La digestibilidad fue calculada para cada fracción del alimento como: (cantidad ingerida (g) – cantidad eliminada (g)) / cantidad ingerida (g). Las muestras de heces fueron colectadas por vía rectal en los horarios: 20:00, 04:00, 12:00, 16:00, 00:00 y 08:00 hs. En cada horario se respetó el orden de muestreo de las vacas.

5.2.3. Producción y composición de la leche

La producción de leche fue medida en ambos periodos durante 3 días consecutivos (P1 desde el 07/12/2021 hasta 09/12/2021 y P2 05 /01/2022 hasta 07/01/2022) utilizando un colector individual y colectando dos muestras (50 ml) por vaca/ordeñe. Las muestras de leche fueron tomadas a partir de un caudalímetro (am + pm) y con ello se calculó la producción total. Las muestras fueron mantenidas con bronopol para determinar grasa, proteína y lactosa, según la norma ISO 9622 (IDF 141:2013).
Los análisis fueron realizados en el Laboratorio COLAVECO, utilizando un equipo FTS-Combi (Bentley Instruments).

5.3. Análisis químicos

Las muestras de RTM y alfalfa, tanto ofrecidas (muestra compuesta) como rechazadas fueron analizadas para: MS (Método ID 934.01), MO (Método ID 942.05), EE (Método Goldfisch-Nielsen, 2003) y PB; mediante el método Kjeldahl N × 6,25; (Método ID 954.01) de acuerdo con el AOAC (2000). La FND y FAD se determinaron de acuerdo con Robertson y Van Soest (1981) y expresadas excluyendo las cenizas residuales según Mertens (2003), la FND se analizó usando α-amilasa, sin sulfito de sodio. A las ofertas de alimento, a los componentes de la RTM y a la cascarilla de soja se analizó el NIDN y NIDA, determinados por análisis de nitrógeno de los respectivos residuos. Los CNF fueron calculados como CNF=100 - (FND (g/100g)) + PB (g/100g) +EE (g/100g), de acuerdo con Sniffen et al. (1992).

Las muestras de leche fueron analizadas para determinar grasa, proteína y lactosa, según la norma ISO 9622 (IDF 141:2013).

5.4. Análisis estadísticos

Los datos fueron analizados a través de un análisis de varianza usando el procedimiento MIXED de SAS (9.0; SAS Institute, Cary, NC, EEUU).

Para consumo, digestibilidad y producción de leche el modelo utilizado fue:

$$Yijk = \mu + Di + Pk + (D \times P) + eij,$$

donde, Yij es la variable dependiente, μ es la media general, Di es el efecto del tipo de tratamiento (dieta) (i = 100%RTM ó 60%RTM) en j réplicas de animales (n = 6 vacas/tratamiento), P es el efecto del periodo (k= 1 ó 2), D×P es la interacción entre la dieta y el periodo y eij es el error residual.

Fueron consideradas diferencias significativas valores de $P \leq 0,05$ y valores de P entre 0,05 y 0,10 se consideraron como tendencias a diferencia.

6. RESULTADOS

En la Tabla 2 se presentan los resultados del consumo de MS. El consumo de RTM y alfalfa fue menor en T60 con respecto a T100 ($P < 0,001$). En el P1 el consumo de RTM fue menor con respecto al P2 ($P = 0,001$) y el consumo de alfalfa en el P1 fue menor con respecto al P2 ($P < 0,001$). En el consumo total de MS se observó una interacción T*P ($P = 0,035$), donde T60 obtuvo un menor consumo respecto a T100 ($P < 0,001$). El consumo de MS total fue menor en el P1 con respecto al P2 ($P < 0,001$).

Tabla 2. Consumo de materia seca (Kg/d) en vacas lecheras alimentadas con una dieta 100% RTM (T100) o 60% RTM y alfalfa fresca a voluntad (T60).

Ítems	Tratamiento				EEM	*P-valor*		
	T100		T60					
	P1	P2	P1	P2		T	P	T*P
RTM	15,1	16,3	9,31	9,96	0,222	<0,001	0,001	0,147
CS	5,37	5,37	5,37	5,37	-	-	-	-
Alfalfa	-	-	2,58	4,12	0,085	<0,001	<0,001	<0,001
Total	20,5	21,7	17,3	19,5	0,240	<0,001	<0,001	0,035

[1] T100 = 100% RTM; T60 = 60% RTM + alfalfa fresca a voluntad.

[2] T = efecto de tratamiento;

[3] T = efecto del tratamiento; P = efecto del período; T*P = interacción T × P.

En la Tabla 3 se presentan los resultados de consumo de nutrientes por tratamiento y por periodo experimental. Se observó un consumo de MO en T60 menor con respecto a T100 ($P < 0,001$), con un menor consumo de MO en el P1 con respecto al P2 ($P < 0,001$). Se observó una interacción para MO de T*P ($P = 0,05$) y para FND, FAD y PC ($P < 0,05$). El consumo de FND, FAD y PC fue menor en T60 con respecto a T100 ($P < 0,001$), con un menor consumo de nutrientes en el P1 con respecto al P2 ($P < 0,001$).

Tabla 3. Consumo de nutrientes (Kg /d) de vacas lecheras alimentadas con una dieta 100% RTM (T100) o 60% RTM y alfalfa fresca a voluntad (T60).

Ítems	T100		T60		EEM	*P- valor*		
	P1	P2	P1	P2		T	P	T*P
MO	18,9	20,0	15,8	17,8	0,218	<0,001	<0,001	0,051
FND	10,7	11,3	9,13	10,2	0,117	<0,001	<0,001	0,034
FAD	3,74	3,95	3,21	3,58	0,040	<0,001	<0,001	0,032
PC	2,61	2,77	2,26	2,58	0,032	<0,001	<0,001	0,007

[1] T100 = 100% RTM; T60 = 60% RTM + alfalfa fresca a voluntad.

[2] P1 = Período 1: 6 al 13/12/2021; P2 = Período 2: 5 al 12/1/2022

[3] T = efecto del tratamiento; P = efecto del período; T*P = interacción T × P.

[4] MO = materia orgánica; FND = fibra neutro detergente; FAD = fibra ácido detergente; PC = Proteína cruda.

En la tabla 4 se presentan los resultados de digestibilidad de nutrientes por tratamiento y por periodo experimental. Se observó mayor digestibilidad de nutrientes (MS, MO y FDN) en T60 con respecto a T100 (P < 0,001), sin diferencias en la digestibilidad de la PC y FDA. Se observó diferencia entre periodos para la digestibilidad de todos los nutrientes evaluados PC (P <0,001), con una mayor digestibilidad en el P2 con respecto al P1. Se detectó interacción (T*P) para la digestibilidad de la MS, MO y FDA (P<0,001), con una tendencia en FDN (P = 0.059).

Tabla 4. Coeficiente de digestibilidad de nutrientes en vacas lecheras alimentadas con una dieta 100% RTM (T100) o 60% RTM y alfalfa fresca a voluntad (T60).

Ítems	T100		T60		EEM	*P- valor*		
	P1	P2	P1	P2		T	P	T*P
MS	0,697	0,733	0,696	0,753	0,0036	0,011	<0,001	0,011
MO	0,711	0,742	0,713	0,763	0.0035	0,006	0,001	0,006
PC	0,700	0,735	0,703	0,763	0,0123	0,213	0,001	0,322
FDN	0,530	0,597	0,565	0,653	0,0056	0,001	0,001	0,059
FDA	0,433	0,443	0,342	0,455	0,0240	0,112	0,018	0,044

[1] T100 = 100% RTM; T60 = 60% RTM + alfalfa fresca.

[2] P1 = Período 1: 6 al 13/12/2021; P2 = Período 2: 5 al 12/1/2022

[3] T = efecto del tratamiento; P = efecto del período; T*P = interacción T × P.

[4] MS = materia seca; MO = materia orgánica; FND = fibra neutro detergente; FAD = fibra ácido detergente; PC = Proteína cruda.

Con respecto a la producción de leche (kg/d y LCG 4%), no se observaron diferencias entre tratamientos, ni entre periodos. Resultados similares se observaron para el

efecto del tratamiento y periodo para la composición de la leche (% de grasa y proteína), la cual no fue afectada por la inclusión de pastura fresca en la dieta.

Tabla 5. Producción de leche (kg/d) en vacas lecheras alimentadas con una dieta 100% RTM (T100) o 60% RTM y alfalfa fresca a voluntad (T60).

Ítems	T100		T60		EEM	*P- valor*		
	P1	P2	P1	P2		T	P	T*P
Leche kg/d	25,6	22,7	26,0	25,6	1,25	0,189	0,199	0,333
4% LCG	26,5	22,7	25,8	26,9	0,790	0,981	0,188	0,023
Grasa, %	4,25	4,14	4,09	4,36	0,179	0,884	0,604	0,278
Proteína, %	3,42	3,52	3,31	3,50	0,098	0,475	0,135	0,623

[1] T100 = 100% RTM; T60 = 60% RTM + alfalfa fresca.

[2] P1 = Período 1: 6 al 13/12/2021; P2 = Período 2: 5 al 12/1/2022

[3] T = efecto del tratamiento; P = efecto del período; T*P = interacción T × P.

7. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente trabajo buscan aportar información para una mejor aproximación al entendimiento del efecto de la inclusión de pastura fresca con base en raciones totalmente mezcladas en vacas lecheras en lactancia media en verano. Los antecedentes de trabajos nacionales han permitido un gran avance en los niveles de combinación de pastura y RTM que permitirían alcanzar los beneficios de ambos componentes. En base a estos antecedentes, es que se consideraron los niveles de sustitución de 40% de RTM por pastura fresca en el presente estudio. Sin embargo, es clave resaltar que se utilizó alfalfa fresca como pastura y el periodo de evaluación fue durante el verano. En cambio, en los trabajos publicados por Mendoza et al. (2016) y Pastorini et al. (2019) la pastura utilizada fue ryegrass durante el invierno. En relación con trabajos nacionales con alfalfa fresca combinada con RTM, Santana et al (2023) reportaron niveles de consumo de alfalfa cercanos al 40% de la dieta. Estos autores concluyeron el acceso de 8horas a la pastura permitió alcanzar niveles similares de producción de leche, comparado con una dieta RTM. En este sentido, la calidad de la alfalfa pudo ser un factor determinante de los bajos consumos obtenidos en nuestro trabajo considerando los resultados reportados por los antecedentes mencionados. Cabe señalar el periodo experimental fue llevado a cabo en verano, y en condiciones de sequía, y no en primavera según las condiciones reportadas por Santana et al. (2023).

Otro punto relevante es que la RTM estuvo constituida por silo de pastura como fuente de forraje (79,5%). Si bien el consumo total de MS fue mayor en T100, T60 presentó una mayor digestibilidad de nutrientes que podría estar explicada por la composición química de la RTM y la calidad de la pastura. La RTM contenía un alto porcentaje de ensilaje de pastura (10 PC% y 48% FDN) mientras que la alfalfa utilizada presentó un 16% PC y 46% de FND, pero un alto contenido de agua y una mejor calidad respecto a la pastura base de la RTM. En todos los antecedentes estudiados, Pastorini (2016), Mendoza (2016), Santana et al. (2023) la fuente de forraje de la RTM fue silo de maíz. Estas diferencias podrían explicar parte de los resultados observados en referencia al consumo de nutrientes, y su relación con la digestibilidad de la dieta debido posiblemente a diferencia en la calidad de la fibra y aporte de almidón.

El menor consumo de nutrientes en el tratamiento que incluyó pastura fresca resalta una de las principales limitaciones en la producción de leche en sistemas de pastoreo, que está relacionada con el bajo consumo de materia seca en comparación con otras estrategias, como la RTM (Cajarville et al., 2012). En este sentido, Pomiés (2014) reportó que una mayor proporción de pastura fresca en la dieta resultó en un menor consumo de MS (24,7 vs. 22,9 kg MS/día). Las diferencias observadas en nuestro estudio pueden atribuirse al porcentaje de MS presente en la pastura en comparación con la RTM, ya que la pastura contenía un mayor contenido de agua, lo que podría contribuir al llenado del rumen y, a su vez, afectar la eficiencia en la recolección de MS por cada bocado. Además, el tamaño de las partículas de los diferentes alimentos podría haber influido, dado que la alfalfa tenía un tamaño de partícula mayor, lo que pudo haber causado un mayor nivel de saciedad con una menor cantidad de MS (Araujo, 2005).

Por otro lado, las variaciones en el consumo observadas entre los diferentes períodos experimentales podrían deberse a la calidad de la pastura. En el primer período (P1), la alfalfa estaba en estado reproductivo, mientras que en el segundo período (P2) se encontraba en estado vegetativo. También es importante mencionar que en P2 se realizó riego en las parcelas. Se sabe que la calidad de la pastura impacta directamente en el consumo. En el caso de la alfalfa, datos de Rebuffo et al. (2000) indican que las alfalfas en estado reproductivo limitan el consumo en comparación con las que están en estado vegetativo. Esto se evidenció en los resultados de este estudio, donde se observó que en P2 los animales consumieron un 37% más de pastura. Por otra parte, cabe destacar que al ya haber pasado por un periodo experimental (P1), el acostumbramiento puede incidir en el consumo. En cuanto al consumo de nutrientes, como se muestra en la Tabla 3, el mayor consumo de materia orgánica (MO) para ambos tratamientos se registró en P2 en comparación con el mismo tratamiento en P1, lo que se puede explicar por el aumento en el consumo de MS en el segundo período de medición. Resultados similares se observaron para la fibra neutra de detergente (FND), fibra ácida de detergente (FAD) y proteína cruda (PC), donde se notó un menor consumo en T60 en comparación con T100 en ambos períodos. Al analizar T60, se evidenció una clara diferencia entre los períodos, lo que puede asociarse a un mayor consumo de MS en P2 en comparación con P1, además de estar relacionado con la calidad del forraje, que presentaba un mayor contenido de MS y un menor contenido de FAD. Resultados similares fueron reportados por Mendoza (2016) y Pastorini (2016), quienes encontraron que el consumo de nutrientes disminuía a medida que aumentaba el consumo de forraje. La diferencia observada en la composición química de la RTM entre los períodos podría estar vinculada a la variación en la composición química del silo de pastura. En el segundo período, el silo provenía de una nueva bolsa de reserva, que mostró diferencias en su composición química y calidad. Esta variación podría explicar también las diferencias observadas en la concentración de FND, posiblemente relacionadas con diferencias en la calidad de fermentación de la reserva.

En relación con la producción de leche y el consumo de nutrientes, es importante destacar que la incorporación de pastura fresca en la dieta no tuvo un impacto negativo en estos aspectos. En el presente trabajo la inclusión de alfalfa fresca representó 15% y 21% del consumo total de MS en el P1 y P2, respectivamente. Este resultado resalta la potencialidad de esta estrategia de alimentación, ya que permite aprovechar los beneficios de la inclusión de pastura sin comprometer la producción de leche. En el trabajo reportado por Santana et al. (2023) en primavera, los autores observaron niveles de inclusión cercanos al 40% de alfalfa fresca, sin diferencias con la dieta RTM. Como fue mencionado previamente, si bien en nuestro trabajo las vacas en T60 tuvieron un tiempo de acceso a la pastura de 10 a 11 hs, se observó un menor consumo MS comparado con estos autores, posiblemente influenciado por las condiciones ambientales y de calidad de la pastura. Sin embargo, la producción de leche no se vio afectada lo que podría ser relevante como estrategia para lograr una mayor eficiencia en el uso de los recursos durante el verano.

Los resultados de la presente tesis forman parte de un trabajo de investigación más amplio que incluyó otras determinaciones y formaron parte de otras tesis de grado. En este sentido, cabe resaltar que Bigot et al. (2022) concluyeron que la sustitución

parcial de RTM por alfalfa fresca en vacas lecheras mostró un ambiente ruminal similar al de las vacas alimentadas únicamente con RTM, sin afectar la producción de leche, ni las emisiones de metano. Los resultados de digestibilidad, sumado a los resultados mencionados anteriormente, permiten afirmar que resulta fundamental considerar la fuente de forraje de la RTM y la calidad de la pastura a la hora de combinar dietas RTM y forraje fresco.

Las condiciones ambientales durante el periodo experimental, principalmente caracterizadas por la sequia y las altas temperaturas dejan nuevas preguntas planteadas al equipo de investigación, en relación al potencial uso de dietas combinadas de pastura fresca y RTM en condiciones restrictivas y sus efectos en la producción.

8. CONCLUSIONES

La inclusión de alfalfa fresca (15 al 20%) permitió mantener los niveles productivos en vacas lecheras de lactancia media alimentadas con RTM y pastura fresca en verano, debido una mayor digestibilidad de nutrientes. En las condiciones evaluadas, el pastoreo de alfalfa fresca afectó el consumo de nutrientes sin disminuir la producción de leche. Estos resultados, podrían representar una ventaja para los sistemas lecheros con base pastoril, disminuyendo los costos de alimentación en comparación con sistemas estabulados durante el verano.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguerre, M., Cajarville, C., La Manna, A., Cavestany, D., Mendoza, A., Mattiauda, D., Carriquiry, M., Repetto, J.L., Meikle, A., & Chilibroste, P. (2017). *Estrategias de alimantación de vacas lecheras en pastoreo: ¿qué hemos aprendido de los sistemas comerciales y qué hemos generado desde la investigación en Uruguay?* ANII, UDELAR, CONAPROLE, INIA, CRI, INIALE. https://ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/13477/1/RevistaEstrategiasdealimentacion.pdf

Allen, M. S. (2000). Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *83*(7), 1598-1624. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75030-2

Araujo, O. (2005). Factores que afectan el consumo voluntario en bovinos a pastoreo en condiciones tropicales. En *IX Seminario de pastos y Forrajes* (pp.1-12). Universidad Nacional Experimental del Táchira.

Aurousseau, B., Bauchart, D., Faure, X., Galot, A. L., Prache, S., Micol, D., & Priolo, A. (2007). Indoor fattening of lambs raised on pasture. Part 1: Influence of stall finishing duration on lipid classes and fatty acids in the longissimus thoracis muscle. *Meat Science*, *76*(2), 241-252. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2006.11.005

Bach, A., Calsamiglia, S., & Stern, M.D. (2005). Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, *88*, (Suppl.), E9-E21. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73133-7

Bargo, F., Muller, L.D., Delahoy, J.E., & Cassidy, T.W. (2002). Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *Journal of Dairy Science*, *85*(11). https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74381-6

Bargo, F., Muller, L.D., Kolver, E.S., & Delahoy, J.E. (2003). Invited Review: Production and digestion of supplemented dairy cows on *pasture Journal of Dairy Science*, *86*(1). https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73581-4

Bargo, F., Muller, L.D., Kolver, E.S, Delahoy, J.E., & Cassidy, T.W. (2002). Milk response to concentrate suplementation of high producing dairy cow grazing at two pasture allowances *Journal of Dairy Science*, *85*(7). https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74252-5

Bigot, J. L., Fontes, D. M., & Montini, J. A., (2022). *Ambiente ruminal y emisiones de metano en vacas lecheras alimentadas con dietas mixtas (pastura + ración totalmente mezclada)* [Tesis de Grado, Facultad de Veterinaria, UDELAR]. https://hdl.handle.net/20.500.12008/39817

Cajarville, C., Aguerre, M., & Repetto, J. L. (2006). Rumen pH, NH3-N concentration and forage degradation kinetics of cows grazing temperate pastures and supplemented with different sources of grain. *Animal Research*, *55*(6), 511-520. https://doi.org/10.1051/animres:2006036

Cajarville, C., Mendoza, A., Santana, A., & Repetto, J. L. (2012). En tiempos de intensificación productiva,¿ cuánto avanzamos en el conocimiento de los nuevos sistemas de alimentación de la vaca lechera. *Veterinaria*, *48*(Suppl 1), 35-39.

Calsamiglia, S., Blanch, M., Ferret, A., & Moya, D. (2012). Is subacute ruminal acidosis a pH related problem? Causes and tools for its control. *Animal Feed Science and Technology*, *172*(1-2), 42-50. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.007

Charlton, G. L., Rutter, S. M., East, M., & Sinclair, L. A. (2011). Effects of providing total mixed rations indoors and on pasture on the behavior of lactating dairy cattle and their preference to be indoors or on pasture. *Journal of Dairy Science*, *94*(8), 3875-3884. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4172

Chilibroste, P. (2012). Estrategias de alimentación en sistemas de producción de leche de base pastoril. *Cangüe*, (32), 2-8.

Chilibroste, P., & Battegazzore, G. (2014). *Proyecto Producción Competitiva*. CONAPROLE.

Chilibroste, P., Gibb, M., & Tamminga, S. (2005). Pasture characteristics and animal performance. En J. Dijkstra, J.M. Forbes, & J. France, *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism* (2ª ed., pp. 681-706). CAB International.

Civiero, M., Delagarde, R., Berndt, A., Rosseto, J., de Souza, M. N., Schaitz, L. H., & Ribeiro-Filho, H. M. N. (2021). Progressive inclusion of pearl millet herbage as a supplement for dairy cows fed mixed rations: Effects on methane emissions, dry matter intake, and milk production. *Journal of Dairy Science*, *104*(3), 2956-2965. https://doi.org/10.3168/jds.2020-18894

Clark, J.H., Klusmeyer, T.H., & Cameron, M.R. (1992). Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *Journal of Dairy Science, 75*(8),2304-2323. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77992-2

Couto, P., Freiría, G., Fontán, M. V., Ortíz, A., Fernández, J., Rostan, F., & Bianchi, M. (2021). *Estadísticas del sector lácteo*.https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/2021-11/Estad%C3%ADsticas%20L%C3%A1cteas%202021vf.pdf

Crampton, E.W., Donefer, E., & Lloyd, L.E. (1960). A nutritive value index for forages. *Journal of Animal Science*, *19*(2), 538-544. https://doi.org/10.2527/jas1960.192538x

de Veth, M.J., & Kolver, E.S. (2001). Digestion of ryegrass pasture in response to change in pH in continuous culture. *Journal of Dairy Science*, *84*(6), 1449-1457. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70178-6

Dillon, P. (2006). Achieving high dry-matter intake from pasture with grazing dairy cows. En A. Elgersma, & S. Tamminga (Eds.), *Fresh herbage for dairy cattle* (pp. 1-26). Springer.

Dynes, R.A. (1996). The animal: Options for managing intake. *Australian Journal of Agricultural Research*, *47*(2), 277-287. https://www.publish.csiro.au/cp/AR9960277#:~:text=https%3A//doi.org/10.1071/AR9960277

Fariña, S., Tuñón, G., Pla, M., & Martínez, R. (2017). *Sistema de Pastoreo La Estanzuela: Guía práctica para la implementación de un sistema de pastoreo.* INIA. https://inia.uy/sites/default/files/publications/2024-06/bd%20115_2017.pdf

Forbes, J.M. (2007). A personal view of how ruminant animals control their intake and choice of food: minimal total discomfort. *Nutrition Research Reviews 20*(2),132-146. https://doi.org/10.1017/S0954422407797834

Giudice, G., Artagaveytia, J., Baraibar, M., Rostán, F., & Pedemonte, A. (2021). *Escenarios para la lechería uruguaya 2021/2022. Mercados, producción, precios y costos*. INALE. https://www.inale.org/wp-content/uploads/2021/11/Escenarios-para-la-lecheria-uruguaya-2021-2022_editado-para-web_comp.pdf

Hall, M. B., & Huntington, G. B. (2008). Nutrient synchrony: Sound in theory, elusive in practice. *Journal of Animal Science*, *86*(suppl_14), E287-E292. https://doi.org/10.2527/jas.2007-0516

Herrera-Saldana, R., Gomez-Alarcon, R., Torabi, M., & Huber, J.T. (1990). Influence of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis. *Journal of Dairy Science, 73*(1),142-148. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78657-2

Hoekstra, N.J., Schulte, R.P.O., Struik, P.C., & Lantinga, E.A. (2007). Pathways to improving the N efficiency of grazing bovines. *Europena Journal of Agronomy, 26*(4), 363-374. https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.12.002

Hoover, W.H. (1986). Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *Journal of Dairy Science, 69*(10), 2755-2766. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(86)80724-X

Huhtanen, P., Kaustell, K., & Jaakkola, S. (1994). The use of internal markers to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. *Animal Feed Science and Technology, 48*(3-4), 211-227. https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90173-2

Kelley, N.S., Hubbard, N.E., & Erickson, K.L. 2007. Conjugated linoleic acid isomers and cancer. *The Journal of Nutrition, 137*(12), 2599-2607. https://doi.org/10.1093/jn/137.12.2599

Khalili, H., & Sairanen, A. (2000). Effect of concentrate type on rumen fermentation and milk production of cows at pasture. *Animal Feed Science and Technology, 84*(3-4), 199-212. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(00)00130-9

Kolver, E. S. (2003). Nutritional limitations to increased production on pasture-based systems. *Proceedings of the Nutrition Society, 62*(2), 291-300. https://doi.org/10.1079/pns2002200

Kolver, E.S., & Muller, L.D. (1998). Performance and nutrient intake of high producing Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *Journal of Dairy Science, 81*(5),1403–1411. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75704-2

Kozloski, G. V. (2011). *Bioquímica dos Ruminantes* (3ª ed). Edra; UFSM.

Lourenço, M., van Ranst, G., Vlaeminck, B., de Smet, S., & Fievez, V. (2008). Influence of different dietary forages on the fatty acid composition of rumen digesta as well as ruminant meat and milk. *Animal Feed Science and Technology*, *145*(1-4), 418-437. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.05.043

Mendoza, A. (2016) *Inclusión de pastura fresca en la dieta de vacas lecheras alimentadas con una ración totalmente mezclada* [Tesis de Doctorado, Facultad de Veterinaria, UDELAR]. Colibrí. https://hdl.handle.net/20.500.12008/32406

Mould, F.L., Ørskov, E.R., & Mann, S.O. (1983). Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion of various roughages. *Animal Feed Science and Technology, 10*(1), 15-30. https://doi.org/10.1016/0377-8401(83)90003-2

Morales-Almaraz, E., Soldado, A., Gonzalez, A., Martínez-Fernández, A., Domínguez-Vara, I., de la Roza-Delgado, B., & Vicente, F. (2010). Improving the fatty acid profile of dairy cow milk by combining grazing with feeding of total mixed ration. *Journal of Dairy Research, 77*(2), 225–230. https://doi.org/10.1017/S002202991000004X

Nocek, J.E., & Russell, J.B. (1988). Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial protein synthesis and milk production. *Journal of Dairy Science, 71*(8), 2070–2107. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79782-9

Noziére, P., Glasser, F., & Sauvant, D. (2011). In vivo production and molar percentages of volatile fatty acids in the rumen: a quantitative review by an

empirical approach. *Animal 5*(3), 403-414.https://doi.org/10.1017/S1751731110002016

Pastorini, M. (2016*). Combinación de diferentes niveles de raigrás y ración totalmente mezclada en dietas de vacas lecheras: efecto sobre el desempeño productivo y eficiencia de utilización de los nutrientes* [Tesis de Maestría, Facultad de Veterinaria, UDELAR]. Colibrí. https://hdl.handle.net/20.500.12008/29065

Pastorini, M., Pomiés, N., Repetto, J. L., Mendoza, A., & Cajarville, C. (2019). Productive performance and digestive response of dairy cows fed different diets combining a total mixed ration and fresh forage. *Journal of Dairy Science*, *102*(5), 4118–4130. https://doi.org/10.3168/jds.2018-15389

Pomiés, N. (2014) *Combinación de diferentes niveles de forraje frescon y ración totalmente mezclada en dietas de vacas lecheras: efecto sobre el aprovechamiento digestivo* [Tesis de Maestría, Facultad de Veterinaria, UDELAR]. https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/handle/20.500.12008/24899

Rebuffo, M., Risso, D. F., & Restaino, E. (2000). *Tecnología en alfalfa.* INIA.

Reynolds, C.K. (2006). Production and metabolic effects of site of starch digestion in dairy cattle. *Animal Feed Science of Technology, 130*(1-2), 78-94. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.01.019

Robertson, J.B., Van Soest, P.J., (1981). The detergent system of analysis and its application to human foods. En O. James, M. Theander, & N.Y. Dekker, *The analysis of dietary fiber in food* (pp. 123-158). Ed. WPT.

Roche, J.R., Blache, D., Kay, J.K., Miller, D.R., Sheahan, A.J., & Miller, D.W. (2008). Neuroendocrine and physiological regulation of intake with particular reference to domesticated ruminant animals. *Nutrition Research Reviews, 21*(2), 207-234. https://doi.org/10.1017/S0954422408138744

Rushen, J., de Passillé, A. M., Keyserlingk, M. A. G., & Weary, D. M. (2008). *The Welfare of Cattle*. Springer.

Russell, J.B., & Strobel, H.J. (1987). Concentration of ammonia across cell membranes of mixed rumen bacteria. *Journal of Dairy Science, 70*(5), 970-976. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80101-7

Santana, A., Cajarville, C., Mendoza, A., Repetto,J.L. (2023). Including 8 hours of access to alfalfa in 1 or 2 grazing sessions in dairy cows fed a partial mixed ration: Effects on intake, behavior, digestion, and milk production and composition. Jounal of Dairy Science, 106, 6060-6079. https://doi.org/10.3168/jds.2022-22743

Soder, K.J., & Muller, L.D. (2007). Case study: Use of partial total mixed rations on pasture-based dairy farms in Pennsylvania and New York. *The Professional*

Animal Scientist, 23(3), 300–307. https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30978-5

Soriano, F. D., Polan, C. E., & Miller, C. N. (2001). Supplementing pasture to lactating Holsteins fed a total mixed ration diet. *Journal of Dairy Science*, *84*(11), 2460-2468. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74696-6

Sutton, J.D., & Reynolds, C.K. (2011). Small intestine of lactating ruminants. En J.W. Fuquay, P.F. Fox, & P.L.H. McSweeney, *Encyclopedia of dairy sciences* (2ª ed., pp. 989-995). Ed. Academic Press.

Van Soest, P.J. (1994). *Nutritional ecology of the ruminant* (2ª ed.). Ed. Cornell University Press.

Vibart, R.E., Fellner, V., Burns, J.C., Huntington, J.B., & Green, J.T. (2008). Performance of lactating dairy cows fed varying levels of total mixed ration and pasture. *Journal of Dairy Research, 75*(4), 471–480. https://doi.org/10.1017/S0022029908003361

Wales, W.J., Kolver, E.S., Thorne, P.L., & Egan, A.R. (2004). Diurnal variation in ruminal pH on the digestibility of highly digestible perennial ryegrass during continuous culture fermentation, *Journal of Dairy Science, 87*(6), 1864-1871. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73344-5

Welch, J.G., & Hooper, A.P. (1993). Ingestion of feed and water. En D.C. Church, *The ruminant animal: Digestive physiology and nutrition* (2ª ed., pp.108-116). Ed. Waveland Press.