

CENTRO INTERNACIONAL DE ALTOS ESTUDIOS AGRONÓMICOS
MEDITERRÁNEOS

INSTITUTO AGRONÓMICO MEDITERRÁNEO DE ZARAGOZA

**UTILIZACIÓN DE ENSILADOS DE CULTIVOS FORRAJEROS INVERNALES
OBTENIDOS CON FERTILIZACIÓN ORGÁNICA ALTERNATIVOS AL RAIGRÁS
ITALIANO EN LA ALIMENTACIÓN DE VACAS LECHERAS DURANTE EL
PERÍODO DE TRANSICIÓN**

Mohammed BENAOUA

Trabajo realizado en el Área de Nutrición, Pastos y Forrajes, Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario, Gobierno del Principado de Asturias, bajo la dirección de **Dr. Fernando VICENTE MAINAR** y de la **Dra. Adela MARTÍNEZ FERNÁNDEZ**

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Allah, por darme la salud y la oportunidad de aprender.

Al Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza (IAMZ) por la financiación de mis estudios del máster.

Al Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA) por poner a mi disposición sus instalaciones y medios técnicos necesarios para la realización del trabajo.

A mis directores de tesis, Dr. Fernando Vicente Mainar y Dra. Adela Martínez Fernández por aceptarme como becario en su proyecto, por su gran apoyo, consejos y contribución a la realización de este trabajo. Un destacado agradecimiento.

A todos los componentes del Área de Nutrición, Pastos y Forrajes del SERIDA: Doctores: Begoña de la Roza Delgado, Alejandro Argamentería, Ana Soldado, Luis Royo y a Mara, María Antonia, Sagrario, Alfonso. Muchas gracias por su disponibilidad de tiempo, atención y paciencia para atenderme y aclarar mis dudas a pesar de mis dificultades lingüísticas.

A toda mi familia, con especial mención a mis padres y mis hermanos y hermanas a quien debo todo el éxito que he realizado, por su continuo apoyo, mensajes de ánimo y envío de fuerzas constante. A todos mis primos, por estar a mi lado cada día a pesar de la distancia.

A Clau, por todo el cariño y amor con el que me ayudó a superar momentos complicados y por infundirme el ánimo necesario para concluir mi trabajo.

A la “cachetona”, por estar conmigo en todo lo bueno y lo malo. Y a todos mis compañeros del curso.

A José Daniel y Alan por la maravillosa compañía que he tenido con ellos.

....De todo corazón, muchísimas gracias.

Los trabajos que componen esta memoria han sido financiados por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) a través de proyecto RTA2011-00112-00-00

INDICE GENERAL

Capítulo	Página
AGRADECIMIENTOS	I
ÍNDICE GENERAL	III
ÍNDICE DE TABLAS	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VI
ABREVIATURAS	VIII
RESUMEN	IX
SUMMARY	XI
RÉSUMÉ	XIII
1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	3
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	9
2.1. El periodo de transición	9
2.1.1. Definición y delimitación temporal	9
2.1.2. Final de gestación e inicio de lactación	9
2.2. Características fisiológicas y nutricionales del periodo de transición	11
2.2.1. Necesidades nutricionales e ingestión de materia seca	11
2.2.2. Adaptación durante el periodo de transición	16
2.2.2.1. Adaptación Digestiva	16
2.2.2.2. Adaptación endocrina	18
2.2.3. Balance energético negativo (BEN)	19
2.2.4. Consecuencias del balance energético negativo	21
2.2.4.1. Cetosis e hígado graso	21
2.2.4.2. Alteraciones en la reproducción	23
2.2.5. Factores de variación de ingestión de materia seca durante la transición	24
2.2.5.1. Factores animales	25
2.2.5.2. Restricción del volumen ruminal	25
2.2.5.3. Factores alimentarios	25
2.2.6. Balance mineral negativo (BMN)	27
2.3. Cultivo asociado habas forrajeras y colza en agricultura sostenible	28
2.3.1. Características agroclimáticas de la Cornisa Cantábrica	28
2.3.2. Rotación de los cultivos	30
2.3.2.1. Importancia del maíz forrajero como cultivo de verano	30
2.3.2.2. Necesidad de un forraje invernal sostenible	30
3. MATERIALES Y METODOS	35
3.1. Lugar experimental y duración	35
3.2. Animales	35
3.3. Planteamiento del ensayo	35
3.4. Desarrollo experimental	38
3.4.1. Manejo de los animales	38
3.4.2. Control de ingestión	39
3.4.2.1. Ingestión de TMR	39
3.4.2.2. Ingestión de piensos	39
3.4.2.3. Ingestión de forraje verde	39
3.5. Toma y conservación de muestras	42
3.5.1. TMR	42
3.5.2. Concentrados suplementarios	43

3.5.3. Forraje verde pastoreado	43
3.5.4. Leche	43
3.6. Análisis de laboratorio	44
3.6.1. Alimentos	44
3.6.2. Leche	44
3.7. Análisis estadísticos	45
4. RESULTADOS	49
4.1. Producción forrajera	49
4.2. Valor nutritivo y aporte energético de los forrajes	51
4.3. Características del suelo agrícola	55
4.4. Composición química de las dietas	56
4.5. Consumo de materia seca	58
4.6. Variación de peso vivo y condición corporal	61
4.7. Producción y composición de la leche tras el parto	62
4.8. Perfil de ácidos grasos de la leche tras el parto	64
4.9. Efecto sobre el parto y la fertilidad en el siguiente ciclo reproductivo	66
5. DISCUSION	69
6. CONCLUSIONES	75
BIBLIOGRAFÍA	79

INDICE DE TABLAS

Tabla	Título	Página
Tabla 2.1.	Pérdida potencial de la producción de leche según la duración del secado después de la primera y segunda lactación.	11
Tabla 2.2.	Comparación entre los requerimientos energéticos en ENI (Mcal/d) dos días antes (preparto) y dos días después del parto (posparto), en vacas y novillas.	13
Tabla 3.1.	Composición de ingredientes de la TMR y de los concentrados comerciales (porcentaje sobre materia seca).	27
Tabla 4.1.	Producción forrajera durante el año agronómico del estudio (cultivo de invierno + cultivo de verano) en dos sistemas de manejo: Convencional vs. Sostenible	49
Tabla 4.2.	Valor nutritivo y aporte energético de los forrajes en corte directo en manejo convencional (raigrás italiano + maíz) y manejo sostenible (habas-colza + maíz).	51
Tabla 4.3.	Valor nutritivo (%MS) y contenido energético estimado de los ensilados de haba+colza (HC) y raigrás italiano (RI).	57
Tabla 4.4.	Composición de ingredientes, valor nutritivo (%MS) y aporte energético estimado de las mezclas TMR.	57
Tabla 4.5.	Valor nutritivo (%MS) y aporte energético estimado de los concentrados suplementarios L y S y de la hierba pastoreada.	58
Tabla 4.6	Consumo diario (kgMS/d) de mezclas TMR, concentrados suplementarios (L y S), hierba y total en cada uno de los tratamientos (HC y RI), antes y después del parto.	59
Tabla 4.7.	Producción diaria, composición y rendimiento de la leche en las cuatro primeras semanas de lactación en cada uno de los tratamientos (HC y RI).	62
Tabla 4.8.	Perfil de ácidos grasos (g AG/100g AG) de la grasa de leche en los dos tratamientos (HC y RI).	65
Tabla 4.9.	Parámetros reproductivos de las vacas en los dos tratamientos	66

INDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
Figura 2.1.	Incremento de las necesidades energéticas durante el periodo de transición.	13
Figura 2.2.	Estado energético de las vacas lecheras al final de gestación y al inicio de lactación.	14
Figura 2.3.	Parámetros climáticos medios de la estación meteorológica de Villaviciosa (Asturias) en el periodo 1978-2011.	29
Figura 4.1.	Producción forrajera (tMS/ha) de los cultivos forrajeros de invierno (asociación haba y colza en manejo sostenible o raigrás italiano en manejo convencional), de verano (maíz) y flora arvense	50
Figura 4.2.	Rendimiento en Proteína Bruta (PB) en kg/ha de los cultivos forrajeros de invierno (asociación haba y colza en manejo sostenible o raigrás italiano en manejo convencional) y de verano (maíz).	53
Figura 4.3.	Rendimiento en Energía Metabolizable (EM) en GJ/ha de los cultivos forrajeros de invierno (asociación haba y colza en manejo sostenible o raigrás italiano en manejo convencional) y de verano (maíz).	54
Figura 4.4.	Rendimiento en Materia Orgánica Digestible (MOD) en t/ha de los cultivos forrajeros de invierno (asociación haba y colza en manejo sostenible o raigrás italiano en manejo convencional) y de verano (maíz).	54
Figura 4.5	Evolución en el suelo de la materia orgánica y el pH según manejo convencional vs. sostenible.	55
Figura 4.6.	Evolución en el suelo de las concentraciones de fósforo (P) y el potasio (K) según el manejo convencional vs. sostenible	56
Figura 4.7.	Consumo semanal (kg MS/d) de las mezclas TMR, de los concentrados L y S y de la hierba en los dos tratamientos (HC y RI)	60
Figura 4.8.	Evolución del peso vivo de los animales en dos manejos durante las cuatro semanas antes y después del parto.	61

- Figura 4.9.** Evolución de la producción de leche según tratamiento (dieta HC o dieta RI) en 4 semanas posparto. **63**
- Figura 4.10.** Evolución del contenido lechero en grasa y proteína (en %) según tratamiento (dieta HC o dieta RI) durante las primeras 4 semanas posparto. **63**

ABREVIATURAS

AFRC: Agricultural and Food Research Council.	IGF-I: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1.
AG: Ácidos grasos.	IMS: Ingestión de materia seca.
AGI: Ácidos grasos insaturados.	LH: Hormona luteinizante.
AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados.	MELN: Materiales extractivos libres de nitrógeno.
AGNE: Ácidos grasos no esterificados.	MOD: Materia orgánica digestible.
AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados.	MS: Materia seca.
AGS: Ácidos grasos saturados.	msnm: Metros sobre el nivel del mar.
AGV: Ácidos grasos volátiles.	NEId: Requerimientos de EN para desplazamiento.
ALM: Almidón.	NEI_g: Requerimientos de EN para gestación.
BEN: Balance energético negativo.	NEI_L: Requerimientos de EN para lactación.
BHBA: β-hidroxibutirato.	NEIm: Requerimientos de EN para mantenimiento.
BMN: Balance mineral negativo.	NEIp: Requerimientos de EN para actividad de pastoreo.
CEN: Cenizas.	NEI_{pv}: Requerimientos de EN para cambio de peso vivo.
CLA: Ácido linoleico conjugado.	NIRs: Espectroscopia en el infrarrojo cercano.
De: Digestibilidad enzimática de la materia orgánica.	NRC: National Research Council.
DMO: Digestibilidad de la materia orgánica.	OMS: Organización Mundial de la Salud
EE: Extracto etéreo.	PB: Proteína bruta.
EM: Energía metabolizable.	PTN: Peso de ternero al nacimiento.
EMMAFF: Energía Metabolizable determinada según el MAFF.	PV: Peso vivo.
EMADAS: Energía Metabolizable determinada según el ADAS.	RI: Raigrás italiano.
EN: Energía neta.	rsd: Desviación estándar residual.
ENAC: Entidad Nacional de Acreditación.	SERIDA: Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario
ENI: Energía neta para lactación.	TG: Triglicéridos.
ESM: Extracto seco magro.	TMR: Ración completa mezclada (Total mixed ration), <i>Unifeed</i> .
FAD: Fibra ácido detergente.	UF: Unidades fertilizantes.
FB: Fibra bruta.	UGM: Unidad de ganado mayor.
FND: Fibra neutro detergente.	
FSH: Hormona foliculoestimulante.	
GnRH: Hormona liberadora de la Gonadotropina.	
HC: Asociación forrajera haba y colza.	
IA: Inseminación artificial.	

RESUMEN

Bajo la premisa de utilizar forrajes de calidad suplementados con el mínimo aporte de concentrado en la alimentación de vacas lecheras en condiciones de pastoreo, como una medida para afrontar la actual situación en la que se encuentra inmerso el sector lechero, y con la necesidad de encontrar nuevos cultivos alternativos más respetuosos con el medio ambiente, se ha planeado el presente trabajo de investigación para evaluar el ensilado de un cultivo asociado de una leguminosa (haba forrajera) y una crucífera (colza forrajera; **HC**) como una alternativa al ensilado de raigrás italiano (**RI**) en la alimentación de vacas frisonas durante el periodo de transición en condiciones de pastoreo.

Se establecieron sobre dos parcelas semejantes y colindantes de 1,7 ha cada una, los dos cultivos invernales puestos en cuestión. El cultivo asociado **HC** fue manejado con criterios de sostenibilidad medioambiental (fertilización orgánica y bajos *inputs* de herbicidas) mientras que el **RI** con un manejo convencional (uso de fertilización sintética y herbicidas). El **RI** se cosechó en dos cortes para ensilar, siendo su segundo corte coincidente con el corte único del **HC**. Los resultados mostraron una producción forrajera del **HC** en un solo corte numéricamente superior a la producción acumulada de los dos cortes del **RI** tanto en materia seca (9,82 vs. 7,88 tMS/ha respectivamente; $P>0,05$) como en proteína bruta (1,63 vs. 1,11 tPB/ha respectivamente; $P>0,05$) e inferior en materia orgánica digestible (8,51 vs. 11,71 tMS/ha respectivamente; $P<0,01$) y energía (89 vs. 93 GJEM/ha respectivamente; $P>0,05$). El crecimiento de adventicias asociadas al cultivo de verano posterior (maíz en ambas parcelas) fue significativamente menor tras el forraje de invierno **HC** que el **RI** (0,28 vs. 1,42 tMS/ha respectivamente; $P<0,01$), ello a pesar de la aplicación de una menor dosis de herbicida, lo que demuestra el poder herbicida de la colza. La evolución del contenido en potasio (K) del suelo refleja el efecto de la fertilización orgánica, rica en K, así como la extracción de K de las capas profundas del suelo por parte de la colza.

La estimación del índice de ensilabilidad de los forrajes clasificó al **RI** como forraje de alta ensilabilidad mientras que el de la asociación **HC** como de media ensilabilidad. Con estos ensilados se elaboraron dos dietas TMR que fueron ofertadas *ad libitum* a dos grupos de vacas frisonas: grupo **HC** (TMR a base de ensilado de **HC**; 5 vacas) y grupo **RI** (TMR en base de ensilado de **RI**; 4 vacas), desde cuatro semanas antes de

la fecha prevista del parto hasta cuatro semanas después. Las vacas tenían acceso al pasto entre 12 y 16 horas por día. Los animales en el grupo **HC** tuvieron un consumo de TMR inferior al observado en el grupo **RI** ($P < 0,001$). Esto se vio compensado por una mayor ingestión de hierba en pastoreo durante las cuatro semanas preparto, sin embargo esta compensación no continuó en el postparto, lo que se manifestó en la recuperación de la ingestión de materia seca total después del parto que fue numéricamente mayor en el grupo **RI** que en el grupo **HC**. La menor ingestión de materia seca del grupo **HC** no afectó la producción de leche (28,14 vs. 28,49 kg leche/d; en el grupo **HC** y **RI** respectivamente) ni al contenido proteico de la leche producida (3,31 vs. 3,26%, respectivamente), ahora bien, el porcentaje de grasa en la leche producida fue superior en grupo **RI** respecto al grupo **HC** (4,36 vs. 3,91% respectivamente; $P < 0,05$). No obstante, la grasa obtenida de leche del grupo **HC** fue más rica en ácidos grasos poliinsaturados que la grasa de la leche del grupo **RI** (3,48 vs. 2,03 gAGPI/100gAG, respectivamente; $P < 0,001$), sobre todo en proporción de ácido linoleico (1,86 vs. 1,36 g/100gAG, respectivamente; $P < 0,01$), CLA (0,74 vs. 0,31 g/100gAG, respectivamente; $P < 0,001$) y linolénico (0,86 vs. 0,35 g/100gAG, respectivamente; $P < 0,001$).

La sustitución del raigrás italiano por le cultivo asociado de haba y colza forrajeras proporciona la ventaja agronómica de una mayor producción por hectárea, a la vez que permite reducir el uso de fertilizantes químicos y herbicidas. El uso de esta asociación forrajera ensilada en la alimentación de vacas en preparto permite reducir el aporte de concentrado en la ración e incrementa el consumo de hierba de pastoreo, lo que permitiría reducir los costes de alimentación en el preparto. Utilizando la misma ración tras el parto, se observa que no afecta a la producción de leche y mejora notablemente el perfil lipídico de la grasa de la misma. No obstante, se observa una limitación en la ingestión de materia seca tras el parto que podría afectar a la producción de leche a medio y largo plazo y a la reactivación de la reproducción, por lo que debería estudiarse la posibilidad de su aporte conjunto con otros forrajes y/o su ensilado con aditivos que permitieran incrementar su digestibilidad e ingestión voluntaria tras el parto.

SUMMARY

The present research work were planned to evaluate a crop silage including a legume (fava bean forage) and crucifer (rapeseed forage, HC) as an alternative to Italian ryegrass silage (RI) in the diet of Friesian cows during the transition period in grazing conditions, under the premise of using quality forages supplemented with a minimal contribution of concentrate in the diet, in order to cope the current situation in which the dairy sector is immersed, and the necessity to find new alternative crops environmental friendly.

Two winter crops (HC and RI) were grown on two similar and adjoining plots, with 1.7 ha each one. The intercropping HC was managed with sustainable environmental conditions (organic fertilizer and low herbicide inputs) while the RI were managed under conventional management (use of synthetic fertilizer and herbicides). The RI was harvested for silage in two cuts, and the HC in an unique cut. Forage production of HC in a single cut was higher than the RI accumulated production of the two cuts, for dry matter (9,82 vs. 7,88 tDM/ha respectively; $P>0,05$) and for crude protein (1,63 vs. 1,11 tCP/ha respectively; $P>0,05$) and lower organic matter digestible content (8,51 vs. 11,71 tOMD/ha respectively; $P<0,01$) and energy production (89 vs. 93 GJME/ha respectively; $P>0,05$). The growth of weeds associated with subsequent summer crops (maize in both plots) was significantly lower in the HC plot than in RI plot (0,28 vs. 1,42 tMS/ha, respectively, $P <0,01$), despite the application of a lower dose of herbicide in the HC plot, which demonstrates the herbicide activity of rapeseed. The potassium (K) evolution in soil reflects the effect of organic fertilization (rich in K) and K extraction from deep soil layers by rapeseed.

The estimation of the ensilability index of both winter crops classified the RI as high ensilability while the HC as of half ensilability. With these silages, two Total Mixed Rations (TMR) were prepared and offered *ad libitum* to two groups of Friesian cows: HC group (TMR based on HC silage, 5 cows) and RI group (TMR silage based on RI; 4 cows), from 4 weeks before the expected calving date until 4 weeks after calving. The cows had access to pasture between 12 and 16 hours per day. The HC-group animals had lower TMR intake than RI-group animals ($P <0,001$). This low intake was offset by an increased grass intake on pasture during the four weeks before calving. However this compensation did not continue in the postpartum period, therefore the recovery of the total postpartum dry matter intake was affected and was

numerically higher in RI group than in the HC group. The lower dry matter intake in the HC-group did not affect milk yield (28,14 vs. 28,49 kg milk / d, in HC and RI group respectively) or protein content (3,31 vs. 3,26%, respectively) however, the fat content was higher in RI group than HC group (4,36 vs. 3,91%, respectively, $P < 0,05$). Nevertheless, the HC-group fat milk was richer in polyunsaturated fatty acids than the milk fat of RI group (3,48 vs. 2,03 gAGPI/100gAG respectively, $P < 0,001$), especially in the proportions of linoleic (1,86 vs. 1,36 g/100gAG, respectively, $P < 0,01$), CLA (0,74 vs. 0,31 g/100gAG, respectively, $P < 0,001$) and linolenic acids (0,86 vs. 0,35g/100gAG, respectively, $P < 0,001$).

Replacement of Italian ryegrass by the intercropping of fava bean and rapeseed provides the advantage of increasing the production per hectare and reducing the use of chemical fertilizers and herbicides. The use of fava bean-rapeseed silage in grazing dairy cows feeding during the prepartum period can reduce the concentrate contribution in the ration and increase the pasture grass intake, thereby, it could reduce feed costs during this period. The use of the same ration based on the HC silage after calving, had not effect on milk production and improves greatly the fatty acids profile of the fat, compared with the RI group. However, there is a limitation on dry matter intake after calving, which could affect milk production at medium and long term and the recovery of the reproduction activity. Hence, it should be research its contribution together with other forages and / or silage additives that allow increase its digestibility and voluntary intake after delivery.

RESUME

Dans le cadre du principe de l'utilisation des fourrages de qualité, complétés par la contribution minimale des concentrés dans la ration des vaches laitières dans des conditions de pâturage, comme une mesure visant à remédier à la situation difficile dans laquelle le secteur laitier se trouve actuellement, et sous la nécessité de trouver nouveaux fourrages alternatifs plus respectueux envers l'environnement, l'objectif de ce travail a été l'évaluation de l'ensilage d'un forages qui associe une légumineuse (haricot fourrage) et crucifères (fourrage de colza, HC) comme une alternative à l'ensilage de ray-grass italien (RI) dans l'alimentation des vaches frisonnes pendant la période de transition au pâturage.

Les deux fourrages en question ont été cultivés sur deux parcelles similaires et adjacent de 1,7 ha chacune. La culture de l'association fourragère HC a été traitée avec des critères de durabilité environnementale (engrais organique et faible *inputs* d'herbicide), tandis que le RI a reçu une gestion conventionnelle (utilisation d'engrais synthétiques et herbicides). Le RI a été récolté pour l'ensilage en deux coupes, coïncidant sa deuxième coupe avec la coupe unique de HC. Les résultats ont montré une production fourragère de HC en un seul de coupe numériquement supérieure à la production accumulée en deux coupes de RI, en matière sèche (9,82 vs. 7,88 tMS/ha, respectivement, $P > 0,05$) et de protéine brute (1,63 vs. 1,11 tPB/ha, respectivement, $P > 0,05$) et une production plus faible de matière organique digestible (8,51 vs. 11,71 tMS/ha, respectivement, $P < 0,01$) et de l'énergie (89 vs. 93 GJEM/ha, respectivement, $P > 0,05$). La croissance des mauvaises herbes associée aux cultures d'été (maïs ultérieures dans les deux parcelles) était significativement plus faible dans la parcelle où le fourrage d'hiver avait été le HC que dans la parcelle de RI (0,28 vs. 1,42tMS/ha, respectivement, $P < 0,01$) malgré l'application d'une faible dose d'herbicide, ce qui démontre le pouvoir herbicide de colza. L'évolution de potassium du sol (K) reflète l'effet de la fertilisation organique (riche en extraction K) et l'extraction de K par le colza des couches profondes du sol.

L'estimation de l'indice de l'aptitude à l'ensilage des deux fourrages a classé le RI comme un fourrage de haute aptitude à l'ensilage tandis que l'association fourragère HC comme un fourrage de moyen d'aptitude à l'ensilage. A partir de ces deux ensilages, deux TMR ont été préparés et offerts *ad libitum* à deux groupes de vaches

frisonnes: groupe HC (TMR a base d'ensilage HC, 5 vaches) et le groupe IR (TMR a base d'ensilage de RI; 4 vaches), à partir de quatre semaines avant la date prévue de vêlage jusqu'à 4 semaines après le vêlage. Les vaches ont eu accès au pâturage durant 12 et 16 heures par jour. Les animaux dans le groupe HC avaient une ingestion de TMR inférieure à celle observée dans le groupe RI ($P < 0,001$). Cela a été compensé par une ingestion accrue de l'herbe au pâturage, durant les quatre semaines avant le vêlage, mais cette compensation n'a pas continué dans la période post-partum, ce qu'il s'est traduit par une récupération de l'ingestion total de matière sèche numériquement plus importante dans le groupe RI que dans le groupe HC. La faible ingestion de MS dans le groupe HC n'a pas eu d'impact sur la production de lait (28,14 vs. 28,49 kg de lait/j, dans les groupes HC et RI respectivement) ni sur la teneur protéiques du lait produit (3,31 vs. 3,26%, respectivement), cependant, le taux butyreux de lait était plus élevé dans le groupe RI par rapport au groupe HC (4,36 vs. 3,91% respectivement; $P < 0,05$). Cependant, la matière grasse du lait de groupe HC était plus riche en acides gras polyinsaturés que celui de groupe RI (3,48 vs. 2,03 gAGPI/100gAG respectivement, $P < 0,001$), en particulier la proportion l'acide linoléique (1,86 vs. 1,36 g/100gAG, respectivement, $P < 0,01$), CLA (0,74 vs. 0,31 g/100gAG, respectivement, $P < 0,001$) et linoléique (0,86 vs. g/100gAG 0,35, respectivement, $P < 0,001$).

La substitution de ray-grass italien par l'association fourragère haricot-colza comme un fourrage d'hiver présente l'avantage d'augmenter la production fourragère par hectare, tout en réduisant l'utilisation d'engrais et d'herbicides chimiques. En effet, l'utilisation de l'ensilage de cette association HC dans l'alimentation des vaches laitières avant le vêlage permet de réduire l'apport du concentré dans la ration et d'augmenter la consommation de l'herbe au pâturage, ce qu'il pourrait réduire, ainsi, les coûts de l'alimentation durant ce période. L'utilisation de la même ration à base de l'ensilage de HC après le vêlage n'affecte pas la production de lait et améliore considérablement le profil lipidique de la graisse dans le lait. Cependant, il ya une limitation de l'ingestion de matière sèche après le vêlage ce qu'il pourrait affecter probablement la production laitière à moyen et long terme et la reprise de l'activité reproductrice. Donc, il faudrait envisager son combinaison avec d'autres fourrages et/ou additifs pour l'ensilage qui permettent d'augmenter sa digestibilité et l'ingestion volontaire après parturition.

INTRODUCCION Y OBJETIVOS

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

Uno de los momentos cruciales en el ciclo productivo de la vaca lechera es el periodo de transición, definido como las tres últimas semanas antes del parto (parte del periodo seco preparto) y las tres primeras semanas después del parto (postparto temprano) (Grummer, 1995). El final de la gestación y el inicio de la lactación se acompañan de cambios endocrinos importantes que superan cualquiera de los que se producen en todo el ciclo productivo de las vacas. Al mismo tiempo que estos cambios, se producen cambios metabólicos que facilitan la movilización de nutrientes desde las reservas maternas hacia la síntesis de leche (Hayirli *et al*, 2002). Las necesidades nutricionales de las vacas durante estas seis semanas se incrementan drásticamente conforme empieza la producción de leche hasta llegar al pico de lactación. En contraste, la capacidad de ingestión de alimento en este periodo es la más baja en toda la lactación, lo que ocasiona un déficit nutricional y un estrés importante en el animal. A pesar de que las vacas responden a estas demandas mediante el aumento de la ingestión de materia seca, la respuesta suele retrasarse, y por lo tanto, entran en un balance negativo de nutrientes durante este periodo (Rastani y Grummer, 2003). El más destacado es el balance negativo de energía que puede generar trastornos metabólicos y problemas de salud serios como el hígado graso y la cetosis, además de repercusiones sobre la actividad reproductiva y complicaciones tales como la retención de placenta, desplazamiento de abomaso y una mayor susceptibilidad a la infección relacionada con inmunodepresión alrededor del parto. Por estos motivos, el periodo de transición ha cobrado relevancia en el campo científico en la medida de que los especialistas en nutrición de vacuno lechero reconocen la importancia de este periodo para asegurar un correcto desarrollo de la unidad feto-placentar al final de gestación y optimizar la producción de leche posterior.

Por otro lado, la producción de leche se encuentra inmersa en una crisis de rentabilidad generada por los elevados costes de las materias primas y los bajos precios de la leche (Álvarez *et al*, 2008). Esta complicada situación está forzando el sector a buscar estrategias para reducir costes, sobre todo en alimentación, que representa una parte muy importante de los gastos de producción de leche. Si tenemos en cuenta que la utilización de los forrajes en dietas de vacas lecheras es indispensable, pudiendo integrar hasta la totalidad de la dieta en algunos momentos del estado fisiológico de los animales (Roca-Fernández *et al*, 2012), la solución al

problema puede estar en reconducir los sistemas de alimentación, potenciando la utilización de forrajes de calidad en busca de una mejora en la eficiencia de utilización de los recursos propios. En este sentido, la zona del norte de España, denominada la Cornisa Cantábrica, se caracteriza por tener suelos fértiles que, junto a las condiciones edafoclimáticas, de gran pluviometría distribuida a lo largo del año y un clima templado con temperaturas suaves, favorecen la producción forrajera. Así, en las explotaciones lecheras de la zona, la producción de forraje ha ido intensificándose en los últimos años, utilizando variedades forrajeras de alto rendimiento vinculadas con el uso de fertilizantes químicos y pesticidas. Este manejo de modo repetitivo ha tenido consecuencias negativas sobre los recursos naturales, como pérdida de fertilidad del suelo, contaminación de los recursos hídricos, eutrofización de aguas superficiales y balance de carbono negativo. De modo habitual, la rotación de cultivo que se repite continuamente por su elevada productividad es el maíz forrajero en verano y raigrás italiano en invierno. Esta rotación anual de dos gramíneas repetida de forma continua se ha manifestado muy exigente en cuanto a fertilización nitrogenada, lo que está poniendo en peligro la salud del suelo. Teniendo en cuenta estas consideraciones, y con el propósito de potenciar la utilización de forrajes de calidad en la alimentación de vacas lecheras, es necesario plantear estrategias de manejo menos agresivas con el medio ambiente y buscar cultivos alternativos menos exigentes pero sin pérdida en la producción forrajera o de el valor nutritivo. Asimismo, es necesario que estas alternativas forrajeras puedan ser utilizadas eficientemente por el vacuno lechero sin menoscabo en la producción y calidad de la leche.

En este sentido, las leguminosas forrajeras, por su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, son especialmente atractivas para la producción sostenible de alimentos para el ganado. Trabajos anteriores realizados en el SERIDA destacan el papel de las habas forrajeras como cultivo invernal por su elevada producción, grandes nódulos de *Rizhobium* fijadores de nitrógeno atmosférico, porte erguido, aporte de proteína y alta digestibilidad (Martínez *et al*, 2002). A diferencia de la mayoría de las leguminosas, su baja capacidad tampón y adecuado contenido en azúcares solubles les confiere una ensilabilidad aceptable (de la Roza *et al*, 2004, Martínez-Fernández *et al*, 2010).

Por otra parte, es sabido que la utilización de abonos verdes promueve la recuperación y reequilibrio mineral en los cultivos, así como una mayor eficiencia en el reciclaje de nutrientes mediante su movilización y solubilización. La colza forrajera

pertenece a este grupo de cultivos llamado abonos verdes. La peculiaridad de la colza consiste en disponer de un sistema radicular potente y profundo que moviliza nutrientes de las capas profundas a las superficiales, especialmente fósforo y potasio, liberándolos gradualmente durante el proceso de descomposición de la materia orgánica. (Vance *et al*, 2003). Además, la colza es rica en isotiocianatos con efectos alelopáticos sobre la flora adventicia, por lo que su utilización como forraje puede ser efectiva para suprimir el desarrollo de malas hierbas (Grundy *et al*, 1999) y mantener la fertilidad del suelo (Liebman y Davis, 2000). Desde el punto de vista nutritivo, la colza tiene un contenido medio de proteína y un alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados, lo que le aporte un especial valor por la posibilidad de ser usada por su potencial a la hora de transferir estos ácidos grasos insaturados a la leche. Las numerosas variedades de la colza que se comercializan en el mercado han reducido su contenido en ácido erúxico, que constituye la principal fuente de ácidos grasos *trans* de los productos de los rumiantes cuando consumen semillas de colza. Asimismo, estas variedades presentan bajos contenidos de ácido prúsico y glucosinolatos, que actúan como factores antinutritivos que provocan baja palatabilidad y un descenso en la eficiencia productiva.

Asociar diferentes familias botánicas da mayor cantidad y calidad forrajera que los monocultivos de las mismas especies en una superficie equivalente (Jolliffe, 1997). Los cultivos forrajeros mixtos a base de leguminosas y otras familias, además de abaratar los costes de producción, proporcionan una mayor cantidad y calidad de ensilado, incrementando significativamente el contenido proteico de la dieta (Anil *et al*, 1998). Sus principales beneficios radican en una mayor productividad en la rotación de cultivos (Doltra y Olesen, 2013) como consecuencia del incremento de fertilidad del suelo a largo plazo y en el aumento de la diversidad.

Considerando todo lo anterior, se ha planteado el presente trabajo cuyo principal objetivo ha sido **evaluar la utilización del pastoreo complementado con dietas *unifeed* elaboradas con ensilados de alto valor nutritivo, obtenidos con bajos *inputs* en fertilizantes, y con el mínimo aporte de concentrado posible, en la alimentación de vacas lecheras en período de transición.**

Para alcanzar este objetivo general se proponen los siguientes objetivos parciales:

1. Evaluar la asociación forrajera de habas con colza como cultivo de invierno alternativo al raigrás italiano.

2. Evaluar sobre vacas frisonas durante el periodo de transición y en condiciones de pastoreo, el uso en la ración de ensilado de haba y colza forrajera en sustitución de la alimentación convencional sobre la ingestión de materia seca y la producción y la calidad de la leche tras el parto.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA:

2.1. El periodo de transición

2.1.1. Definición y delimitación temporal

Según el diccionario de la Real Academia Española, el término “transición” significa “Acción y efecto de pasar de un modo de ser o estar a otro distinto”. En este sentido, las vacas lecheras sufren, a lo largo de su vida, varias transiciones. Las más destacadas son el nacimiento, el destete y el parto. Este último representa el acontecimiento central de un periodo en el que ocurren muchos cambios de importancia considerable tanto por su naturaleza como por su magnitud.

Goff y Horst (1997), describen la transición en periparto como el paso de un estado de preñez no lactante (vaca en preparto) a un estado de no preñez y lactante (vaca en postparto) y es a menudo una experiencia desastrosa para la vaca lechera. Entre el final de gestación y el comienzo de lactación, la vaca necesita una atención especial en cuanto a su confort, nutrición y manejo sanitario para una transición exitosa. Este periodo ha cobrado gran relevancia en el campo científico en la última década, pero su determinación temporal ha sido un desacuerdo en la literatura. Algunos lo definen como el periodo que se extiende entre un mes antes del parto y un mes después, momento en el que se llega al pico de lactación (DeGaris y Lean, 2008). No obstante, la mayoría de los trabajos revisados estrechan este rango entre los 21 días previos y 21 días posteriores al parto (Grummer, 1995). Aunque seis semanas parecen un rango de tiempo corto, las vacas están predispuestas a varios problemas sanitarios y metabólicos que pueden afectar al animal desproporcionadamente, lo que hace de este periodo, el más importante en el ciclo productivo y reproductivo de la vaca lechera (Ingvarlsen *et al*, 2003).

2.1.2. Final de gestación e inicio de lactación

En el último trimestre de la gestación, la producción láctea disminuye progresivamente cuando la vaca se prepara para un nuevo ciclo productivo. Por eso, un manejo constante que fue recomendado la primera vez muchos años atrás (Dix Arnold y Becker, 1936) y que ha sido ampliamente adoptado durante décadas, consiste en interrumpir la producción láctea, entre dos lactaciones consecutivas, entre 50 a 60 días antes del parto (Schaeffer y Henderson, 1972; Dias y Allaire, 1982; Makuza y McDaniel, 1996; Bachman y Schairer, 2003). Este tiempo, conocido como periodo seco, es una medida necesaria para renovar y preparar el tejido

mamario y el tracto digestivo a un nuevo ciclo lácteo y maximizar, por lo tanto, la producción de leche (Rémond *et al*, 1997). Sin embargo, el periodo seco junto al periodo entre el nacimiento y su primer parto representan los días improductivos que diluyen la función de maximizar las ganancias de la producción por día de vida (Lormore y Galligan, 2001). Así, se han realizado muchos estudios con el fin de evaluar su validez como un estándar apropiado en la industria lechera moderna e identificar su duración mínima óptima.

Kuhn *et al* (2005) realizaron un estudio destinado a evaluar el efecto de varias longitudes del periodo seco en la lactación subsecuente y reportaron un máximo de producción de leche aplicando un periodo de secado entre 60 y 65 días. En contraste, Sørensen y Enevoldsen (1991), Gulay *et al* (2003), Pezeshki *et al* (2007) y Santschi *et al* (2011), concluyeron que un acortamiento de hasta menos de 40 días de secado sería más adecuado, ya que no se vieron efectos significativamente negativos sobre la producción posterior y, además, un secado más corto significa una duración de transición menos drástica. De otra parte, acortar el período seco hasta 30 días no tiene efectos negativos sobre la salud de la glándula mamaria, medida como infecciones intramamarias y recuentos de células somáticas (Church *et al*, 2008; Steeneveld *et al*, 2013).

Otros trabajos (Rémond *et al*, 1997; Sawa *et al*, 2012; Steeneveld *et al*, 2013) han estudiado el efecto de omitir completamente el secado sobre la lactación posterior, partiendo del hecho de que los rebaños comerciales actuales son altamente productivos y de la teoría de que es más estresante forzar el secado de vacas de alto rendimiento que todavía pueden estar dando 25 kg de leche por día que mantener la lactación (Rémond y Bonnefoy, 1997). También se ha argumentado que el ordeño continuo no debe ser visto como un acortamiento extremo del secado, ya que no hay paro de la producción de leche, lo que implica, en principio, ningún proceso de involución y, así, no hay necesidad de la regeneración posterior.

Sin embargo, los ensayos de lactación continua señalaron una pérdida diaria de leche que osciló entre 3,2 y 9,1 kg/día en vacas sin periodo seco comparadas con sus compañeras de rebaño con un periodo de seco convencional. Estas pérdidas son el equivalente de 10 hasta 30% del rendimiento de la siguiente lactación. Dicha pérdida de leche se achacó a la reducción de la funcionalidad del parénquima mamario (Annen *et al*, 2004).

En la Tabla 2.1 se muestra que, independientemente de la edad de la vaca, un secado de menos de 30 días o de más de 70 días es negativo para la productividad de la lactación posterior.

Tabla 2.1. : Pérdida potencial de la producción de leche según la duración del secado después de la primera y segunda lactación (Kuhn *et al*, 2006)

Duración del secado	Primera lactación	Segunda lactación
< 30 días	-1000 a -2600 kg	-1570 a -3450 kg
> 70 días	-2400 a -4700 kg	-2700 a -4500 kg

En definitiva, el tejido mamario de la vaca altamente productiva requiere un periodo de no-lactación antes del parto y es mucho más eficiente permitir a las vacas tener un periodo de descanso entre dos lactaciones que puede oscilar entre 40 y 60 días (Andersen *et al*, 2005; Klusmeyer *et al*, 2009; Mantovani *et al*, 2010).

2.2. Características fisiológicas y nutricionales del periodo de transición

2.2.1. Necesidades nutricionales e ingestión de materia seca

El periodo de transición se caracteriza por marcados cambios fisiológicos, metabólicos y digestivos. Durante las 2 a 4 últimas semanas de gestación se produce un aumento sustancial de las necesidades energéticas del animal debido al desarrollo fetal y a la necesidad de producir calostro. Esto se aplica tanto a las vacas primíparas como a múltiparas, aunque las primíparas todavía están en crecimiento y tienen, por lo tanto, mayores requerimientos que las múltiparas (Friggens *et al*, 2004).

Las necesidades del crecimiento mamario al final de la gestación podrían ser también consideradas, aunque la última versión del NRC (2001) no las tiene en cuenta porque se han realizado pocos trabajos para definir dichos requerimientos. En el último trimestre de gestación, el feto pasa de representar el 45% del peso total del útero el día 190 de gestación al 80% el día 270 de la gestación (Bell *et al*, 1995). Este rápido crecimiento centralizado, al final de gestación, implica unas demandas energética, proteica y mineral altas, estimadas por Bell (1995) como una subida del

30% al 50% de las necesidades de gestación. De hecho, el NRC (2001) asume como nulas estas necesidades cuando los días de gestación son inferiores a 190. A partir de entonces, siguen un patrón cuadrático hasta el día 270 de gestación, suponiendo un costo sustancial al animal al final de la preñez, ya que en este momento el desarrollo de la masa placentario-fetal requiere diariamente 0,82 Mcal de EM, 117 gr de proteína, 10,3 gr de Ca, 5,5 gr de P y 0,2 gr de Mg. En esta fase, la densidad energética de la dieta debería ser en torno de 1,40 Mcal de energía neta de leche (ENL) por kg de materia seca (MS) y el aporte proteico de la ración de alrededor de 14 - 16 % y de 15 - 17% de proteína bruta (PB) para vacas y novillas de primer parto respectivamente.

La iniciación de la síntesis de calostro provoca un marcado aumento en las necesidades de energía. La producción de 10 litros de calostro el primer día postparto ocasiona un gasto de 11 Mcal de energía neta de lactación. En los primeros días de lactación, cada kg de calostro producido necesita 1,1 Mcal de energía metabolizable, 14 gr de proteína bruta, 2,3 gr de Ca, 0,9 gr de P y 0,1 gr de Mg. A continuación, la demanda nutricional después del parto sigue intensificándose conforme aumenta la producción de leche hasta llegar a su máximo en el pico de lactación de manera que cada kg de leche producido requiere entre 0,7 y 0,8 Mcal de ENL (Figura 2.1). En este estadio, la densidad energética de la dieta debería ser de 2,2-2,4 Mcal ENL/kgMS, el porcentaje de proteína bruta del 16-18 %, con el 38-45 % como proteína no degradable en el rumen.

Para resumir estos importantes cambios, se han calculado a partir de las recomendaciones de NRC (2001) las necesidades (en energía neta de lactación; ENL) de una novilla y una vaca múltipara dos días antes y dos días después del parto (Tabla 2.2), asumiendo que en el segundo día las vacas producen 25 kg de leche postparto y las novillas 20 kg, ambas con una tasa de grasa de 4%. Las vacas pierden en el parto un peso promedio de 80 kg y las novillas 60 kg, que representan el peso del ternero y los anejos placentarios. Se puede observar claramente que en un rango de tiempo de cuatro días las necesidades en energía neta de lactación se duplican.

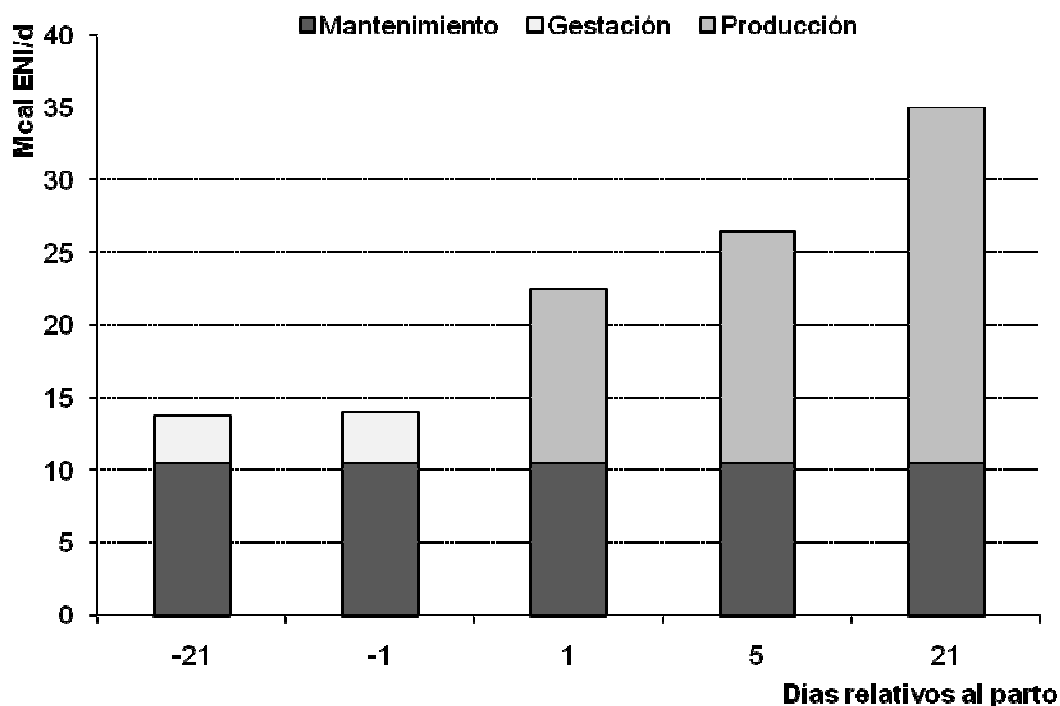


Figura 2.1. Incremento de las necesidades energéticas durante el periodo de transición

Tabla 2.2. : Comparación entre los requerimientos energéticos en ENI (Mcal/d) dos días antes (preparto) y dos días después del parto (posparto), en vacas y novillas lecheras según NRC (2001).

Necesidades NEI (Mcal/d)	Vaca (700 kg de PV)		Novilla (560 kg de PV)	
	Preparto (-2 d)	Posparto (+2 d)	Preparto (-2 d)	Posparto (+2 d)
Mantenimiento	10,9	10,2	9,2	8,5
Gestación	3,4	-	2,6	-
Crecimiento	-	-	1,8	1,6
Producción	-	18,7	-	14,7
Total	14,3	28,9	13,6	25,8

En este periodo, no solamente aumentan drásticamente las necesidades energéticas, sino también los de otros nutrientes. Drackley *et al* (2001) documentaron una duplicación, incluso una triplicación de los requerimientos en energía metabolizable y glucosa de las tres semanas previas al parto a las tres semanas postparto. Las estimaciones de las necesidades de aminoácidos, ácidos grasos y glucosa por parte de la glándula mamaria indican aproximadamente un

aumento de dos veces en la demanda de aminoácidos, cinco veces en los ácidos grasos y 2,5 veces la demanda de glucosa (aproximadamente de 1000 g/día a 2500 g/día) desde los últimos días de gestación al día 21 postparto. En el caso de la glucosa las necesidades en el período postparto exceden al suministro a partir del consumo de energía dietética en más de 500 g/día (Bell, 1995; Overton *et al* 1999).

Esta situación de incremento de necesidades nutricionales al final de gestación y principio de la lactación se acompaña de una disminución del consumo de materia seca. Estas dos circunstancias son, con frecuencia, responsables del desarrollo de un balance energético negativo (BEN) (Figura 2.2), que se inicia unos días antes del parto. Durante las primeras semanas de secado, el consumo de materia seca es de aproximadamente el 2% del peso vivo en vacas adultas y el 1,7% en novillas primíparas, pero disminuye en una función exponencial en las últimas dos semanas antes de la parto.

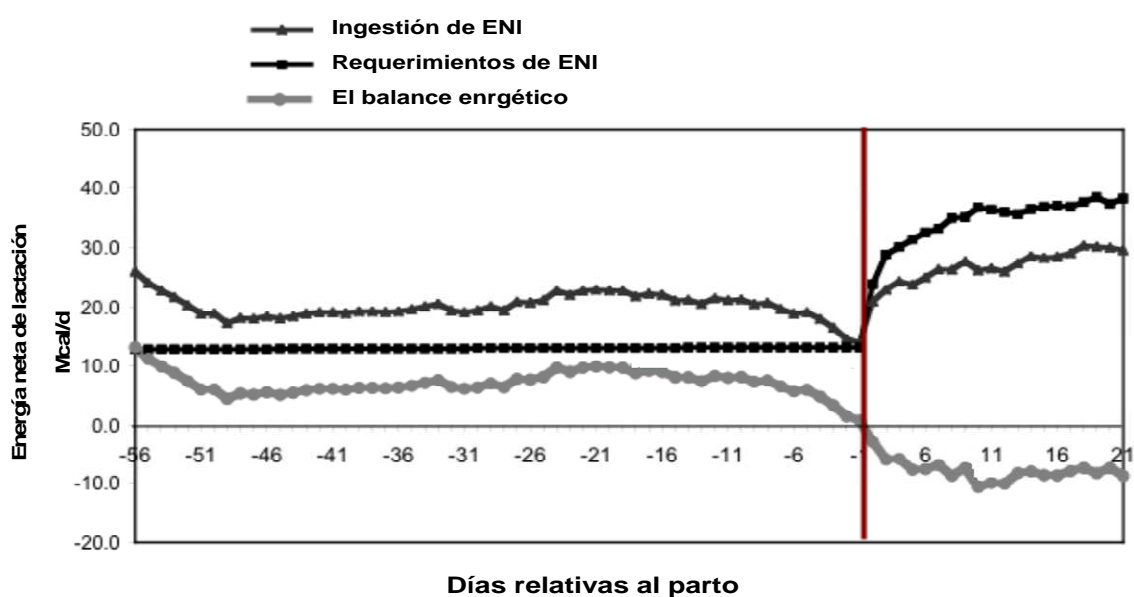


Figura 2.2. Estado energético de las vacas lecheras al final de gestación y al inicio de lactación (Grummer, 2008)

Resulta paradójico que el incremento en la demanda de nutrientes esté acompañado de una disminución en la capacidad de ingestión de materia seca (IMS) fundamentalmente en las últimas tres semanas de preñez, siendo la ingestión de alimento en este momento crítico, la más baja en todo el ciclo lactación-gestación (Grummer *et al*, 2004). Hayirli *et al* (2002) observaron que vacas Holstein en

transición reducían un 32% la IMS durante las tres últimas semanas de gestación, ocurriendo el 89% del descenso en la última semana y siendo este descenso más gradual en las vacas que en las novillas. En las primeras semanas posparto, la IMS sigue estando por debajo del nivel de satisfacción de la demanda de nutrientes debido a que el aumento del consumo de materia seca es más lento que el aumento del ritmo de producción de leche (Bell, 1995). Como consecuencia, la magnitud del desafío metabólico que deben afrontar las vacas lecheras en el comienzo de la lactación es asombrosa. Este desajuste entre la ingestión de alimento y la producción de leche es el resultado de décadas de selección genética para alta producción de leche. De hecho, Gurrmer *et al* (2004) estima que actualmente las vacas producen 10 veces más de leche que lo requerido para satisfacer las necesidades alimenticias de su cría.

Es sabido que todas las vacas sufren un proceso normal de movilización de tejidos y grasa corporal en el postparto, pero si las necesidades de mantenimiento y lactación exceden la capacidad de la vaca para consumir suficiente cantidad de energía, aparece el balance energético negativo. Sin embargo, Drackely (2005) ve que este reto puede ser superado, ya que las vacas son mayoritariamente capaces de responder al BEN sin dificultad, porque las adaptaciones metabólicas necesarias para apoyar la producción de leche son un componente de los factores que están genéticamente seleccionados. Frente al déficit energético, el organismo reacciona movilizandoo reservas corporales, aumentando la glicogénesis hepática a partir de sustratos endógenos y disminuyendo el uso no esencial de la glucosa en los tejidos no-mamarios (Bell, 1995).

Un estudio de Bertics *et al* (1992) fue citado con frecuencia durante muchos años para ilustrar la importancia de maximizar el consumo voluntario de materia seca durante la preparación del parto. En este estudio, un grupo de vacas fueron alimentadas normalmente y mostró la caída típica de IMS cerca del parto. Sin embargo, en otro grupo de vacas durante las tres semanas previas del parto se introdujeron, vía fístula ruminal, los rechazos de la dieta, imitando un alto consumo mantenido durante todo el período de preparto. Se observó que la infiltración de grasa en el hígado de las vacas en alimentación "forzada" fue significativamente menor que en vacas del grupo control. Este hecho fue interpretado como una indicación de la necesidad de maximizar la IMS antes del parto y/o de aumentar la densidad energética de la dieta. Sin embargo, algunos estudios más recientes muestran que esto tal vez no es totalmente correcto, ya que lo importante no es

realmente la cantidad absoluta de la materia seca y la energía consumida, sino la magnitud de la disminución de la IMS en las últimas semanas antes del parto. Así, la palabra clave en este periodo pasó de ser “aumento del consumo” a ser “mantenimiento del consumo”. Es decir que la alimentación en el periodo de transición tendría que ser formulada de forma que los animales eviten grandes cambios en la dieta y en la condición corporal. De hecho, el NRC (2001) recomienda que las vacas no deben ganar peso vivo durante el período seco, a excepción del incremento de peso asociado al crecimiento del feto y las membranas fetales. En efecto, un análisis estadístico retrospectivo de varios estudios que comparan diferentes estrategias nutricionales para las vacas secas, mostró que los niveles de ácidos grasos no-esterificados (un indicador directo de la movilización de las reservas corporales) y la acumulación de lípidos en el hígado se ven influenciados más por la magnitud en la caída de IMS en las dos semanas antes del parto que por el nivel de IMS (Grummer *et al*, 2004).

2.2.2. Adaptación durante el periodo de transición

Desde que la vaca es secada hasta llegar al pico de lactación, ocurren muchos cambios y adaptaciones fisiológicas y metabólicas, principalmente causadas por el cambio cuantitativo y cualitativo en la alimentación y exacerbadas por las variaciones endocrinas que caracterizan el momento del parto.

2.2.2.1. Adaptación Digestiva

Convencionalmente, ocho semanas antes de la fecha esperada del parto, se deja de aportar cereales a la ración con el fin de reducir la síntesis de leche. Por lo tanto el pH ruminal y el perfil y la cantidad de nutrientes resultantes de la fermentación ruminal y absorbidos por el animal cambian drásticamente. Esto implica reajustes en el metabolismo y en el sistema digestivo para acomodar el parto y la lactación siguiente.

Los forrajes favorecen el crecimiento en el rumen de una flora celulolítica y la producción de metano, mientras que los concentrados favorecen el desarrollo de las bacterias amilolíticas y la síntesis de ácido propiónico. Una vaca tras del secado recibe una dieta fibrosa (alto contenido en FND y FAD) y de baja densidad energética, pobre en hidratos de carbono no estructurales, lo que modifica la microflora dominante y el epitelio ruminal. La microbiota ruminal cambia hacia una

flora fundamentalmente celulolítica, acompañada de una destacada reducción de microorganismos aminolíticos que son los responsables de la conversión de la mayor parte del lactato, producto de la fermentación de almidón, en propionato. Su desaparición reduce la capacidad de convertir el lactato, un ácido con una capacidad acídica más fuerte que el propiónico.

Otro efecto de una dieta de baja densidad energética durante el primer periodo del secado de la vaca, es una reducción en la longitud de las papilas ruminales. La pared del rumen sirve para el transporte de grandes cantidades de ácidos grasos volátiles (AGV): acetato, propionato y butirato (la principal fuente de energía absorbida por el tracto gastrointestinal) y ejerce una extensa labor en el transporte de los iones necesarios para apoyar el transporte de AGV. El decrecimiento del tamaño de las papilas del rumen origina una menor superficie de absorción de los AGV, habiéndose calculado que durante las primeras siete semanas del periodo de vaca seca, se puede perder hasta el 50% de la capacidad de absorción de AGV por la mucosa ruminal (Bannink *et al*, 2012). El crecimiento del epitelio ruminal está condicionado por la presencia de los AGV, fundamentalmente el ácido propiónico, y es un proceso que tarda entre 3 a 4 semanas en establecerse.

En la segunda parte del secado y al principio de lactación, las vacas suelen recibir en la dieta cantidades importantes de concentrados. Cuando esto sucede de forma repentina, se desencadena un crecimiento en poco tiempo (3 – 5 días) de la flora amilolítica productora de lactato, como *Streptococcus bovis* y *Lactobacillus spp* (Reddy *et al*, 2008). En contraste, las bacterias utilizadoras del lactato, como *Megasphaera elsdenii* y *Selenomonas ruminantium*, que lo metabolizan a AGV, presentan un crecimiento relativamente lento, entre 3 y 4 semanas.

Por consiguiente, la súbita introducción de concentrado inmediatamente después del parto, tiene varias consecuencias negativas. El ácido láctico tiene mayor capacidad para reducir el pH del rumen que los ácidos grasos volátiles, y éstos podrían ser absorbidos con mayor rapidez en un medio ácido, pero al no haber tenido las papilas ruminales suficiente tiempo para regenerarse, la absorción es limitada. La escasa presencia de ácido propiónico, principal estimulador del crecimiento papilar, retrasa la recuperación del tamaño de papila óptimo, y los AGV, que normalmente se absorben con relativa facilidad, no pueden absorberse a velocidad adecuada. Zitnan *et al* (1999) documentaron una longitud necesaria de 1-1,5 cm de las papilas ruminales para conseguir una plena absorción.

Por lo tanto, en el periodo de transición, se dan en el rumen una combinación de producción masiva del ácido láctico, adaptación retrasada de la población microbiana que lo metaboliza y una reducción en la capacidad de absorción de la pared ruminal que favorece el desarrollo de acidosis.

2.2.2.2. Adaptación endocrina

Como se ha detallado anteriormente, el periodo de transición se caracteriza por una baja IMS que requiere de una cuidadosa coordinación del metabolismo para alcanzar los requerimientos de energía, glucosa, aminoácidos y calcio por la glándula mamaria después del parto. La baja IMS genera una fuerte disminución de la concentración de glucosa en la sangre. La primera adaptación del metabolismo de la glucosa a la lactación es el incremento de la gluconeogénesis hepática (Reynolds *et al*, 2003). El organismo de una vaca de alta producción busca una fuente para la síntesis de glucosa dirigida a la síntesis de lactosa en la glándula mamaria, y simultáneamente disminuye la oxidación de glucosa por tejidos periféricos. Las hormonas que actúan aumentando la gluconeogénesis en el hígado en el periparto son la insulina, el glucagón, la somatotrofina y el cortisol. La baja concentración sanguínea de glucosa disminuye la estimulación de las células pancreáticas β para liberar la insulina.

La adaptación del metabolismo lipídico en la transición se destaca principalmente por la movilización grasa corporal o lipólisis, para cubrir el déficit energético que caracteriza el inicio de la lactancia en vacas.

El metabolismo del calcio esta bajo un estricto control endocrino regulado por la absorción intestinal del mineral, resorción y deposición ósea, reabsorción renal y excreción urinaria, reciclaje por la saliva, deposición fetal (animal preñado) y secreción en la leche (animal lactando) y excreción fecal. Como ya se mencionó anteriormente, la demanda de calcio posparto se triplica respecto al preparto. Por lo tanto, la estrategia nutricional para minimizar la hipocalcemia posparto se basa en el control de estos mecanismos endócrinos, privilegiando la absorción intestinal y resorción ósea del calcio para que la vaca maneje más eficientemente este período de balance negativo del mineral.

2.2.3. Balance energético negativo (BEN)

Es muy frecuente que durante el período de transición, dada las crecientes necesidades nutricionales por parte del feto y de la glándula mamaria, las vacas de alta producción entren en un estado de balance energético negativo que va acompañado por una gran movilización de ácidos grasos no esterificados (AGNE) desde el tejido adiposo hacia el hígado y el resto de los tejidos para satisfacer las demandas energéticas.

Antes el parto (los últimos 10 a 14 días de gestación), las vacas lecheras pueden experimentar el BEN debido, principalmente, a la caída de ingestión de materia seca y en menor medida al incremento de la demanda energética consecuente del crecimiento fetal. El BEN es más evidente en novillas que en vacas (Grummer *et al*, 2004) debido a que las primeras presentan un requerimiento energético adicional para el propio crecimiento esquelético (VandeHaar y Donskin, 1999). El grado de movilización de estos ácidos grasos no esterificados antes del parto tiene relación directa con los desórdenes metabólicos posparto (Dyk *et al*, 1995).

Todas las vacas lecheras pasan por un estado de BEN las primeras semanas que siguen el parto (Herdt, 2000) causado por el incremento de la demanda provocado por la secreción de leche y el inadecuado incremento en el consumo de alimento (Figura 2.2) y generalmente recuperan un balance energético positivo hacia la séptima semana de la lactación (Rastani y Grummer, 2003).

Una movilización excesiva de grasa del animal, libera en la sangre una fuerte concentración de AGNE lo cual conduce a la aparición de trastornos metabólicos y enfermedades de periparto, principalmente hipercetonemia e hígado graso (Grummer, 1993; Ingvarsen y Moyes 2013). Además, cuando la energía es escasa, los mecanismos fisiológicos que distribuyen la energía favorecen aquellos procesos que aseguran la viabilidad del individuo, en detrimento de aquellos procesos que promueven el crecimiento, la longevidad y la reproducción. Como consecuencia a la afección de la actividad reproductiva, las vacas con BEN tardan habitualmente en restablecer la actividad ovárica.

La oxidación de glucosa en todo el organismo disminuye después del parto y aumenta la entrada de glucosa respecto al período preparto. La mayor parte del aumento en los requerimientos de glucosa debe ser cubierta vía gluconeogénesis

hepática a partir de los aminoácidos absorbidos en el intestino y desde sustratos endógenos como aminoácidos, lactato y glicerol (Reynolds *et al*, 2003). Se ha observado una contribución máxima a la gluconeogénesis del 32 a 73% a partir del propionato, 10 a 30% a partir de los aminoácidos, en torno del 15% a partir del lactato y sólo un ligero porcentaje a partir del glicerol (Seal y Reynolds, 1993).

No solamente la grasa, el músculo esquelético también está sujeto a movilización en casos más avanzados de BEN. Diversos trabajos señalan que el músculo esquelético es el principal proveedor de aminoácidos que sustenta el aumento de la gluconeogénesis durante el período de postparto (Bell, 1995; Bell *et al*, 2000). Los resultados de Overton *et al* (1998) confirman lo anterior, al encontrar que la conversión de propionato a glucosa los días 1 y 21 postparto fueron el 119 y 129% de la conversión el día 21 preparto, siendo la conversión de alanina a glucosa en los mismos días postparto de 198 y 150% de la conversión el día 21 preparto. Similares resultados fueron obtenidos en hepatocitos aislados de corderos a los que se les administró fluorizina para aumentar la pérdida urinaria de glucosa, donde la conversión de alanina a glucosa fue un 285% mayor que el control, mientras que la conversión de propionato a glucosa aumentó sólo un 166% (Overton *et al*, 1999).

Comúnmente se usa la condición corporal como indicador del balance energético del animal porque medir este último a nivel de campo es prácticamente imposible ya que requiere una determinación diaria del peso corporal, la IMS y la composición y la producción de leche. La técnica de determinación de la condición corporal, tal como la define Edmonson (1989), es una herramienta sencilla, rápida y económica para cuantificar el estado de engrasamiento del animal y su evolución en el tiempo. Existen otras técnicas de medir el balance energético como evaluar la composición láctea, pues se ha observado que la relación grasa:proteína de la leche está negativamente correlacionada con el balance energético (Grieve *et al*, 1986). Es decir que las vacas en postparto que sufren un déficit energético tenderán a presentar altos contenidos de grasa y/o bajos contenidos en proteína en leche. Hay otra correlación negativa entre el porcentaje de grasa en la leche del primer día de lactación y el balance energético (De Vries y Veerkamp, 2000) es decir que las vacas que empiezan la lactación con elevado porcentaje de grasa en la leche pueden padecer un BEN más pronunciado.

Los animales en BEN se caracterizan por niveles sanguíneos elevados de hormona de crecimiento y ácidos grasos no esterificados, y bajos del factor de crecimiento

similar a la insulina tipo I (IGF-I), insulina, y glucosa (Canfield y Butler, 1991; Whitaker *et al*, 1993).

En definitiva, para una vaca lechera de alto rendimiento en periparto, es de mayor importancia que se reduzca la extensión y la duración de este balance negativo de energía. Esto se puede lograr mediante la maximización de la ingesta de energía, por la disminución de la relación entre nutrientes lipogénicos y nutrientes glucogénicos (Van Knegsel *et al*, 2007a, b), o por la disminución de los *output* de energía en la leche, usando el ácido linoleico conjugado en la alimentación, aunque éste no siempre mejora el balance energético de la vaca (Castañeda Gutiérrez *et al*, 2005).

2.2.4. Consecuencias del balance energético negativo

2.2.4.1. Cetosis e hígado graso

La movilización excesiva del tejido adiposo conduce a un trastorno metabólico relacionado con los lípidos. Éstos, liberados en la sangre en forma de AGNE, son sustratos para oxidación y son usados por los tejidos como fuente de energía durante periodos de BEN.

La captación de AGNE por el hígado esta condicionado por el flujo sanguíneo y la concentración de los mismos en la sangre, con una estimación aproximada de 25% de la captación total del cuerpo (Drackley *et al*, 2001). Después de ser captados, los AGNE en el hígado siguen una de las siguientes tres rutas metabólicas: 1) Oxidación completa a dióxido de carbono, 2) Oxidación parcial dando lugar a la aparición de cuerpos cetónicos o 3) re-esterificación a triglicéridos (TG; Drackley, 2005). La primera ruta se ve muy comprometida por la limitada capacidad del hígado de oxidar completamente los ácidos grasos. Además, el hígado de los rumiantes es notoriamente lento en la exportación de los TG hacia otros tejidos extra hepáticos en forma de lipoproteínas de muy baja densidad (Kleppe *et al*, 1988). Por lo tanto, si su capacidad de tomar de la sangre los AGNE y sintetizar TG excede su capacidad de deshacerse de ellos, se almacenan en el parénquima hepático causando un engrasamiento del órgano llamado "hígado graso". Reid (1980) reportó que la grasa puede ocupar hasta un tercio del parénquima hepático tras una sola semana postparto. Como consecuencia, las funciones metabólicas del hígado tales como la

gluconeogénesis, ureogénesis y la síntesis de colesterol y prostaglandina se reducen (Gurmmmer, 1995).

Está demostrado que incrementar la densidad energética y proteica (más de 1,6 Mcal de ENI/kg y más de 16% de proteína bruta, respectivamente) en dietas durante el último mes de preñez, aumenta la IMS y baja la concentración plasmática de AGNE y la concentración hepática de los TG (VanderHaar *et al*, 1999). Con una dieta de densidad proteo-energética aproximadamente similar, Janovick *et al* (2011) observaron que los animales alimentados *ad libitum*, tuvieron en preparto menos concentración plasmática de AGNE que en animales de alimentación restringida al 80% de los requerimientos recomendados por el NRC (2001). Sin embargo, en postparto, el primer grupo presentó más AGNE en sangre y más TG en los hepatocitos que el grupo de alimentación restringida, y más frecuencia de cetosis y desplazamiento de abomaso. El estado metabólico de las vacas cuya ingestión de energía fue restringida durante la transición, resultó sorprendentemente similar en pre y postparto. Una concentración energética por debajo de 10,5 MJ de EM/kgMS fue relacionada con una mayor probabilidad de cetosis en vacas lecheras en periodo de transición (Vicente *et al*, 2005).

Hay datos que sugieren que, en vacas frisonas, la concentración de AGNE en la sangre aumenta una semana antes el parto si la IMS cae debajo del 11 kg/d (French, 2006). Durante el BEN hay una elevada movilización lipídica y los AGNE elevados en la sangre por el hígado son oxidados a cuerpos cetónicos o almacenados como TG. Como resultado, las vacas están predispuestas a cetosis e hígado graso. En ensayos de alimentación forzada para mantener la IMS durante el preparto de vacas canuladas, se reportaron bajas concentraciones de TG en el hígado en el primer día postparto respecto a vacas que padecieron el típico descenso de IMS antes el parto (Bertics *et al*, 1992). Sin embargo, en el mismo estudio, se observó que la alimentación forzada comparada con alimentación normal no daba diferencias significativas en cuanto a la concentración de AGNE en la sangre. Por lo tanto, las vacas alimentadas forzadamente no evitaron la subida de los AGNE tras el parto.

Se supone que las vacas con mayor concentración sanguínea de AGNE han movilizado más tejido adiposo para apoyar la producción de leche y pierden más condición corporal en comparación con vacas con menor concentración de AGNE en sangre (Beever, 2006). Como consecuencia, las vacas con concentraciones

sanguíneas de AGNE y cuerpos cetónicos por encima del umbral crítico pueden estar predispuestas a tener una gran incidencia de enfermedades en el periparto como la cetosis clínica y el desplazamiento del abomaso (Ospina *et al*, 2010). La alta necesidad del organismo de glucosa al principio de la lactación impide el suministro de la misma a varios tejidos y órganos, incluso aquellos relacionados con la reproducción.

Vickers *et al* (2013) han demostrado que alimentar las vacas en periodo de transición con una dieta altamente fibrosa puede ser una solución a estos trastornos fisiológicos, ya que, las vacas alimentadas durante el preparto con forraje al 87% de la dieta presentaron menor concentración de β -hidroxibutirato (BHBA) tras del parto que las vacas alimentadas con 77% de forraje, observando también una menor incidencia de cetosis en vacas alimentadas con alto nivel de forraje durante el preparto.

2.2.4.2. Alteraciones en la reproducción

Normalmente, la primera ovulación después del parto se observa tres semanas después del parto en aproximadamente el 50% de las vacas sanas (Kawashima *et al*, 2007a, b). La recuperación de la actividad ovárica está generalmente relacionada con la alta fertilidad (Darwach *et al*, 1997) y la precocidad de la recuperación del ciclo ovulatorio está muy relacionada con tasa de concepción (Butler, 2001). Uno de los mayores factores que retrasan la reanudación de la ciclicidad ovárica en las vacas de alta producción es el BEN (Lucy 2001). Butler y Smith (1989) observaron que el BEN en postparto estaba directamente relacionado con el intervalo “parto-primer ovulación”. Butler *et al* (2006) demostraron que las vacas que tuvieron una reanudación tardía son aquellas que tenían mayor BEN entre la primera y la segunda semana postparto comparadas con vacas de ciclicidad normal. En este sentido, en casi el 50% de las vacas, los folículos dominantes no son capaces de ovular y quedan atrésicos o quísticos (Sakaguchi *et al*, 2004; Kawashima *et al*, 2007a).

Como se ha detallado anteriormente, el BEN causa una combinación metabólica caracterizada por altas concentraciones de la hormona de crecimiento y bajas concentraciones de glucosa, insulina y IGF-1 en la sangre (Gross *et al*, 2011). Estos factores están obviamente relacionados con la actividad reproductiva (Butler *et al*, 2006; Lucy 2003; Armstrong *et al*, 2003). En particular, el IGF-1 y la insulina son

claves porque estimulan la producción del estradiol en las células de la granulosa (Glister *et al*, 2001) y la proliferación de las células foliculares (Butler *et al*, 2006). Kawashima *et al* (2007 b) observaron que, durante la primera onda folicular postparto, los niveles de circulación de IGF-1 fueron más altos en vacas ovulatorias que vacas no-ovulatorias.

A nivel del hipotálamo, la principal consecuencia del BEN se manifiesta por la reducción de la frecuencia de los pulsos de la GnRH, lo cual retrasa la liberación pulsátil de LH y FSH necesaria para la estimulación de los folículos ováricos, la producción de estradiol y la ovulación (Butler *et al*, 2006).

Por otro lado, el hígado en esta fase está encargado de soportar el déficit glucósico vía oxidación de AGNE. Este órgano juega un papel importante como la principal fuente del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I), y la baja concentración sanguínea de insulina es responsable de baja producción de IGF-I. Este último estimula el desarrollo folicular en los ovarios y en su ausencia, la actividad funcional de dichos tejidos se ve negativamente influenciada (Butler, 2003).

Todo ello, ha conducido a una baja fertilidad y tasa de concepción en las vacas lecheras actuales, situándose en al 35-40% en vacas adultas comparada con 51% para vacas de primera lactación y más de 65% en novillas, lo que indica una disminución de fertilidad con el número de lactaciones (Butler, 2005). Stevenson (2001) reportó un número alto (28-50%) de vacas en anoestro después los 50 días postparto que fracasan a la primera inseminación y concluyen que el BEN fue el principal factor. Butler (2001) complementó las conclusiones de Stevenson y reportó una disminución del 10% en la tasa de concepción por cada 1/5 punto de condición corporal perdido.

2.2.5. Factores de variación de ingestión de materia seca durante la transición

La mayoría de los problemas de salud en vacas lecheras altamente productivas, sean metabólicos o infecciosos, ocurren al principio de la lactación y se han relacionado con un consumo de MS relativamente bajo justo antes del parto. Los factores que afectan y regulan la IMS son numerosos y complejos y abarcan desde niveles celulares hasta niveles macroambientales (Allen, 2000). Grummer *et al* (2004), recopilando en una revisión los factores que afectan la IMS, empezaron el

artículo mencionando que “*no hay otro momento en la vida de la vaca más tumultuoso que la transición entre final de la gestación y principio de lactación (...) Durante este periodo crítico, la IMS está en nivel el más bajo de todo el ciclo lactación-gestación*”.

2.2.5.1. Factores animales

Como se observó anteriormente, el número de parto influye sobre la IMS en el preparto, pues es más baja en primíparas (expresada como % del peso corporal) que múltiparas. Sin embargo, la disminución de IMS en preparto comienza antes y es más gradual en múltiparas (French, 2006).

Una condición corporal excesiva antes del parto disminuye la IMS (Garnsworthy y Topps, 1982; Holter *et al*, 1990). Este descenso en las vacas grasas comienza antes y es más grave que en las vacas con condición corporal moderada (Hayirli *et al*, 2002). Por esta razón, es importante gestionar el balance energético durante la transición para que las vacas alcancen el período seco con una condición corporal inferior o igual a 3,5.

2.2.5.2. Restricción del volumen ruminal

La reducción del consumo de materia seca en el preparto coincide con el incremento del peso feto-placental, lo que permite pensar que puede estar relacionado con la limitación del espacio en la cavidad abdominal en general y con la compresión del rumen en particular (Stanley *et al*, 1993). La presencia del feto (además de sus membranas y líquidos) ocupa hasta el 30% de la cavidad abdominal. Sin embargo, la expansibilidad de ésta última es suficiente para acomodar el desarrollo fetal sin restringir excesivamente el rumen, pues su capacidad de llenado aumenta linealmente ($p < 0,01$, $R^2 = 0,74$) a lo largo del periodo de la transición (Park *et al*, 2001). Además, la reducción de volumen del rumen al final de la gestación provoca un aumento en la tasa de paso de las partículas en el rumen evitando así el descenso de IMS (Park *et al*, 2011).

2.2.5.3. Factores alimentarios

Los factores dietéticos tienen la mayor influencia sobre la ingestión voluntaria de materia seca en el periodo de transición. El principal factor es el contenido en fibra

neutro detergente (FND) en la dieta (Hayilrli *et al*, 2002). De acuerdo con los datos de este estudio, la IMS se maximiza (2% del peso corporal) cuando la dieta contiene aproximadamente 30% de FND, mientras que para concentraciones de 42 y 54% de FND, la IMS es 1,68 y 1,64% de peso corporal, respectivamente.

El contenido proteico de la dieta tiene una influencia menor sobre la IMS en preparto. No obstante, el exceso de proteína en este período parece tener efectos adversos que se reflejan sobre la IMS en postparto (Grummer *et al*, 2004).

Holcomb *et al* (2001) y Douglas *et al* (2006) demostraron que al restringir la alimentación en vacas en preparto al 80% de los requerimientos en energía neta de lactación, se mejora la IMS en postparto. Estas observaciones llevaron a hacer recomendaciones de dieta con más fibra y menos energía en la ración en lugar de restringir el consumo total de las raciones digerible y con una densidad energética moderada: alrededor de 1,40 a 1,50 Mcal / kg (Grummer *et al*, 2004; Varga, 2004). Estas dietas contienen necesariamente una cantidad significativa de fibra de forraje y para conseguir esta densidad energética en la ración, varias combinaciones de ingredientes han sido propuestas. Algunos prefieren el ensilado de maíz combinado con paja picada (Drackley y Janovick-Guretzky, 2007). Otros sugieren que las gramíneas forrajeras combinadas con una fuente de almidón altamente fermentable son favorables (Bradford y Allen, 2008a). Grummer *et al* (2004) propone otra estrategia de alimentación en el periodo de transición. Se trata de alimentar las vacas con una dieta única en todo el ciclo gestación-lactación, lo cual podría eliminar los cambios dietéticos perjudiciales, minimizando los cambios y posiblemente reduciendo los efectos potencialmente adversos que puede tener sobre la IMS.

Allen *et al* (2009) establecieron una teoría que describe los mecanismos de control de la IMS y se basa en la suposición de que la oxidación de sustratos por el hígado sirve como una señal de saciedad y por lo tanto limita la IMS. Los principales sustratos oxidados por el hígado son los ácidos grasos (ya sea a partir de la movilización de las reservas corporales o por la absorción intestinal de los lípidos de la dieta) y propionato (derivado de la fermentación ruminal) y en menor medida los aminoácidos, el ácido láctico y el glicerol. En transición, como se ha comentado anteriormente, la contribución de los ácidos grasos como fuente de oxidación hepática es mayoritaria. Las vacas demasiado grasas, al tener gran cantidad de reservas corporales, presentan una movilización lipídica más destacada, lo que aumenta los niveles de ácidos grasos en la sangre y la oxidación hepática de los

mismos y como consecuencia, el hígado envía más señales de saciedad y la IMS cae (Allen y Bradford, 2008b). Además, el aumento de la secreción de leptina, una hormona peptídica del tejido adiposo que controla el apetito secretada en mayor abundancia cuando el tejido es más abundante, también podría contribuir a la reducción de la IMS (Ingvarsen, 2006).

La IMS está regulada por fenómenos biológicos complejos e integrada con el metabolismo animal. Sin embargo, hasta la última década, el papel del componente metabólico en la regulación de la IMS fue infravalorado en los modelos de predicción del consumo (Ingvarsen y Andersen, 2000). En este sentido, y dado el cambio metabólico drástico que ocurre alrededor del parto, la pérdida del apetito en esta fase puede ser explicada por los cambios en el conjunto metabólico: estado fisiológico (particularmente en las concentraciones sanguíneas de las hormonas esteroides), metabolitos y señales de citocinas.

2.2.6. Balance mineral negativo (BMN)

Como se detalló anteriormente, en el periodo de transición ocurren una serie de adaptaciones metabólicas a las exigencias de la lactación en energía, proteína y minerales. Las necesidades en minerales alrededor del parto aumentan rápidamente de igual forma que las necesidades energéticas y proteicas. En efecto, el desarrollo fetal al final de la gestación requiere diariamente 10,3 g de calcio, 5,4 g de fósforo, y 0,2 g de magnesio (House y Bell, 1993; Goff y Horst, 1997). A continuación, la síntesis de calostro y luego la leche impone a la vaca un gasto creciente, pues la producción de 10 kg de calostro en el día del parto requiere 23 g de calcio, 9 g de fósforo, y 1 g de magnesio, cantidades importantes que deben ser suministradas con la dieta o ser llevado a la glándula mamaria a partir de las reservas corporales. Sin embargo, dichas necesidades superan las capacidades de la vacas en la mayoría de los casos generando un balance mineral negativo (BMN) y resultando en la manifestación de trastornos metabólicos como la hipocalcemia.

El control hormonal del metabolismo fosfático no se conoce completamente, pero se cree que está estrechamente relacionado con el del Ca. El metabolismo cálcico está bajo regulación de la hormona paratifoidea, y la vitamina D es un metabolito que estimula la resorción del Ca y P en caso de hipocalcemia. La absorción intestinal del Ca y P se produce vía difusión pasiva cuando la dieta contiene cantidades suficientes de los mismos. La hipocalcemia y la hipofosfatemia activa el 1,25-

dihidroxicolecalciferol renal que, juntamente con la vitamina D, promueve el transporte activo del Ca y el P a través del epitelio intestinal (Goff, 2006). Las vacas presentan un BMN en los 10 primeros días de lactación por la lenta adaptación de los mecanismos de absorción de Ca en respuesta al súbito aumento en la demanda (Moreira *et al*, 2009).

Se ha sugerido que entre 0,8 y 1,3 kg de Ca se pueden movilizar a partir de los huesos de las vacas adultas para hacer frente a las deficiencias de absorción (dietético o fisiológico) y con alta producción de leche al principio de la lactación (Liesegang *et al*, 2000; NRC, 2001). La incidencia media de la fiebre puerperal clínica en vacas de leche en Europa es aproximadamente el 6,2% (DeGaris y Lean, 2008).

2.3. Cultivo asociado habas forrajeras y colza en agricultura sostenible

2.3.1. Características agroclimáticas de la Cornisa Cantábrica

La zona del norte de España, también conocida como “Cornisa Cantábrica” se caracteriza por sus peculiares condiciones edafoclimáticas. Su clima, fundamentalmente oceánico es húmedo, con una pluviometría entre los 1000 y 1500 litros/m², distribuidos a lo largo del año y temperaturas suaves sin grandes oscilaciones como se puede observar en la Figura 2.3. Estas condiciones climáticas favorecen la producción forrajera y la instalación de un paisaje amable con predominio de praderías destinadas a la ganadería. En este sentido, las cifras del MAPA sobre el destino de las superficies agrarias en el año 2005 destacan que la España húmeda con tan solo un 12% de la superficie de España, dispone del 20% de la superficie destinada a pastos, lo que confirma la especialización territorial de la zona.

En contraste, desde la integración de España a la Unión Europea y la aparición de la “cuota láctea”, el sector productor de leche ha ido modificándose progresivamente hacía un sistema más intensivo. Esta progresiva intensificación de la producción de leche dio lugar a la introducción de considerables cantidades de cereales en la alimentación de los animales, cuyo elevado coste ha motivado un importante incremento de los costes de alimentación, estos, representan hasta el 80% de los gastos variables de la misma (Pérez Alvarez, 2010) y aunque las vacas lecheras de alta producción pueden amortiguar en parte el aumento en gastos, hay que buscar la manera de independizar la producción animal de la oscilación de los

precios del mercado con la finalidad de mejorar la rentabilidad y de implantar una estructura productiva más sostenible. Esto conlleva inevitablemente la necesidad de aprovechamiento de los recursos naturales que abundan la región, garantizando la máxima inclusión de los forrajes de alta calidad nutritiva en la alimentación animal. Es decir, es necesario buscar estrategias de alimentación que incorpore forraje de calidad obtenidos a través de manejos sostenibles ya que estas estrategias condicionan tanto la calidad como la cantidad de la leche producida.

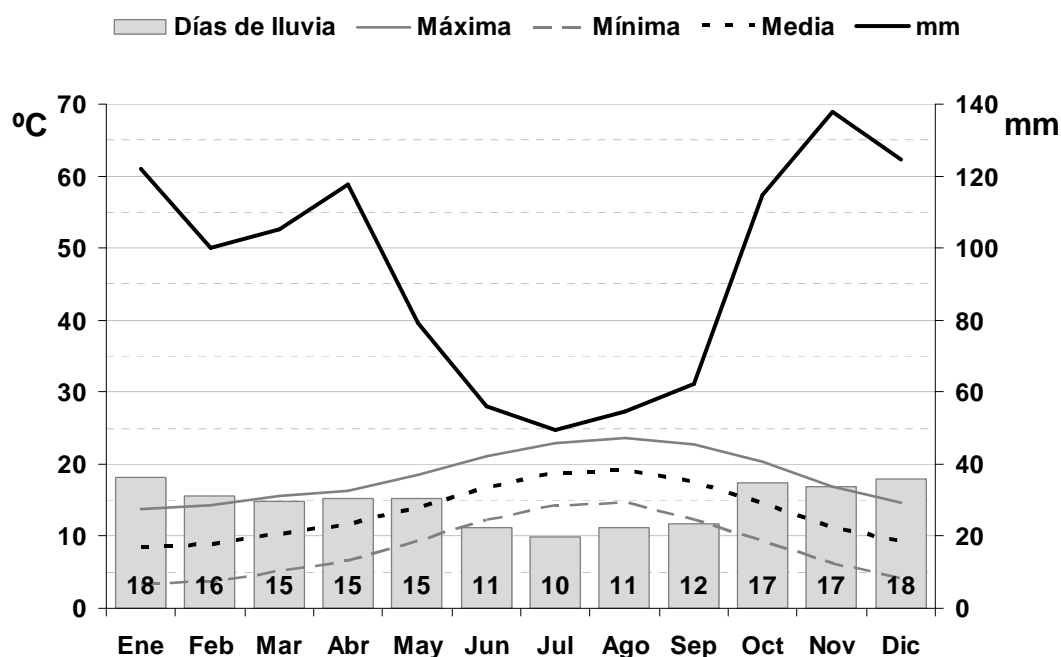


Figura 2.3. Parámetros climáticos medios de la estación meteorológica de Villaviciosa (Asturias) en el periodo 1978-2011.

Como casi siempre, la implantación de nuevas estrategias enfrenta un conjunto de dificultades. En el caso de la Cornisa Cantábrica, la base territorial reducida y estacionalidad de la producción forrajera son los principales factores limitantes.

La superficie dedicada a los pastos en esta zona está explotada generalmente en forma de praderas dedicadas al pastoreo o en forma de rotación estacional de cultivos utilizando especies y variedades bien adaptados a los peculiares condiciones edafoclimáticas. Varios trabajos reportaron la importancia de las praderas en un agroecosistema estable que abarca desde un beneficio ambiental (evitar la erosión del suelo y captar CO₂; Stefani *et al*, 2007) hasta un beneficio

cualitativo de la producción de leche (enriquecimiento natural en ácidos grasos poliinsaturados; González-Rodríguez *et al*, 2010; Morales-Almaráz *et al*, 2011).

2.3.2. Rotación de los cultivos

2.3.2.1. Importancia del maíz forrajero como cultivo de verano

La rotación estacional entre cultivos forrajeros (forraje de verano y forraje de invierno) ha sido utilizada ampliamente en las últimas décadas conforme ha ido incrementándose el tamaño de las explotaciones lecheras. Con el propósito de intensificar la producción vegetal, el maíz forrajero (*Zea mays L*) se manifestó el cultivo ideal de verano por su importante rendimiento forrajero ya que es el único forraje que puede dar entre 12 y 20 tMS/ha si necesidad de regadío y en solo cuatro a cinco meses. Es un alimento de alto contenido energético debido al elevado contenido en almidón y presenta una buena digestibilidad de sus partes verdes. Además, su perfecta ensilabilidad es indiscutible aunque su contenido proteico es escaso. Ahora bien, su baja tasa de degradación ruminal permite una mejor actividad de la microbiota ruminal, liberando energía lentamente, lo que posibilita un incremento en la eficacia de síntesis de proteína microbiana cuando hay disponibilidad de nitrógeno. Conservado en forma de ensilado, es el principal ingrediente en la alimentación de vacas lecheras durante una gran parte del otoño y todo el invierno como suplemento a la baja producción de pasto.

Algunos trabajos han buscado un posible sustituto, como el sorgo, Resch *et al* (2013) documentaron una producción inferior a la del maíz. En Asturias según los datos del Gobierno del Principado de Asturias (2011), la superficie destinada a la producción de maíz forrajero en los últimos 25 años está en aumento, en detrimento de la superficie destinada a producir maíz grano. En granjas gallegas, el ensilado del maíz proporciona aproximadamente el 40% de la MS de la ración diaria de las vacas.

2.3.2.2. Necesidad de un forraje invernal sostenible

El uso de un cultivo forrajero invernal para rotar con el maíz, aparte de su ventaja de evitar la erosión del suelo en terrenos dejados en baldío, completa la rotación anual y dependiendo del cultivo elegido puede proporcionar hasta 8 tMS/ha en el periodo de invierno.

En este sentido, se realizaron investigaciones en búsqueda del forraje el que más se adapta a las características de las explotaciones lecheras de la Cornisa Cantábrica. El raigrás italiano (*Lolium multiflorum* L.) se ajusta perfectamente a la demanda ganadera en cantidad de forraje (Martínez-Fernández *et al*, 2008) y en valor alimenticio. Sin embargo, esa rotación de dos gramíneas es muy exigente en fertilización nitrogenada y productos químicos como los herbicidas y los insecticidas. Esto, provoca un agotamiento del suelo, pérdida de su fertilidad, contaminación de los recursos hídricos, eutrofización de aguas superficiales, impacto negativo sobre la atmósfera y balances negativos de carbono y otros nutrientes. Por ello, para potenciar la utilización de forrajes de calidad, es necesario plantear estrategias de manejo menos agresivas con el medio ambiente.

Las leguminosas forrajeras, por su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, son especialmente atractivas para la producción sostenible de alimentos para el ganado. Trabajos realizados en el SERIDA destacan el papel de las habas forrajeras por su elevada producción, grandes nódulos de *Rizhobium* fijadores de nitrógeno, porte erguido, aporte de proteína y alta digestibilidad. A diferencia de la mayoría de las leguminosas, su baja capacidad tampón y alto contenido en azúcares solubles les confiere una ensilabilidad aceptable (de la Roza *et al*, 2004, Martínez-Fernández *et al*, 2010).

Por otra parte, es sabido que la utilización de abonos verdes promueve la recuperación y reequilibrio mineral en los cultivos, así como una mayor eficiencia en el reciclaje de nutrientes mediante su movilización y solubilización. La colza, por ejemplo, dispone de un sistema radicular potente y profundo que moviliza nutrientes (especialmente P y K) de las capas profundas a las superficiales liberándolos gradualmente durante el proceso de descomposición de la materia orgánica (Vance *et al*, 2003). Su utilización como forraje puede ser efectiva para suprimir el desarrollo de malas hierbas (Grundy *et al*, 1999) y mantener la fertilidad del suelo (Liebman y Davis, 2000). Además, tras aprovechar su parte aérea como forraje, su sistema radicular puede ser aprovechado como abono verde para mejorar la estructura del suelo. Otra alternativa es la asociación de cultivos, con los que se obtienen producciones de mayor cantidad y calidad que los monocultivos de las mismas especies en superficies equivalentes (Jolliffe, 1997) y cuyo principal beneficio es el incremento de fertilidad del suelo.

En base a estas consideraciones se ha elegido un cultivo asociado de Habas forrajeras (*Vicia faba L.*) y Colza (*Brassica napus L.*) como alternativa sostenible al Raigrás Italiano (*Lolium multiflorum L.*) como forraje de invierno en rotación con el maíz. Los aspectos más destacados de estos cultivos se describen a continuación.

El haba forrajera (*Vicia faba L.*) es una especie muy productiva (5-8 t MS/ha/año). Fija de 150 a 320 kg de nitrógeno/año que, posteriormente, libera durante su crecimiento. Además, actúa ayudando a tomar elementos minerales del suelo, mejora las propiedades físicas del mismo, enriqueciendo en humus y en nutrientes y mejorando su capacidad de intercambio catiónico.

La colza forrajera (*Brassica napus L.*) es la más productiva de las crucíferas forrajeras (11 t MS/ha/año) destinándose toda la planta a la alimentación animal. Es un cultivo de rápida implantación en el campo. La existencia de un gran número de variedades hace que el periodo de siembra sea muy amplio. Además, la colza dispone de un sistema radical muy potente y profundo, que moviliza nutrientes como el fósforo y el potasio (P y K) devolviéndolos a la superficie (Vance *et al*, 2003) y secuestra nitratos (52 kg N/ha; Jackson *et al*, 1993), evitando que estos se pierdan por lixiviación en suelos permeables en los intervalos entre cultivos principales. Otro efecto destacado de la colza es que tiene un gran potencial para el control alelopático de malas hierbas (rico en isotiocianatos, exuda ácidos cítricos y málicos). Desde el punto de vista nutritivo, la colza tiene un contenido medio de proteína y un alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados, lo que le aporta un especial valor por la posibilidad de ser usada por su potencial a la hora de transferir estos ácidos grasos insaturados a la leche. Las numerosas variedades de la colza que se comercializan en el mercado han reducido su contenido en ácido erúico, que constituye la principal fuente de ácidos grasos *trans* de los productos de los rumiantes cuando consumen semillas de colza. Asimismo, estas variedades presentan bajos contenidos de ácido prúsico y glucosinolatos, que actúan como factores antinutritivos que provocan baja palatabilidad y un descenso en la eficiencia productiva.

MATERIALES Y METODOS

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Lugar experimental y duración

El presente trabajo se llevó a cabo en las instalaciones de la Unidad de Leche del Área de Nutrición Animal, Pastos y Forrajes del Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA) del Principado de Asturias, Villaviciosa (España) ubicada geográficamente en la zona costera centro oriental de Asturias (latitud 43° 28' 50", longitud 5° 26' 27" y una altitud de 10 msnm). El ensayo tuvo una duración de 10 meses aproximadamente, desde el inicio del trabajo experimental hasta la finalización del proceso de análisis de las muestras y redacción de la memoria.

3.2 Animales

Se seleccionaron 9 vacas frisonas (3 primíparas y 6 multíparas) en preparto con un peso vivo medio de 635±25 kg. Los animales se distribuyeron al azar en dos grupos uno de cuatro y otro de cinco vacas, atendiendo al número de parto, días de gestación y peso vivo. El ensayo experimental se llevó a cabo bajo los estándares de la directiva europea 86/609/EEC sobre el uso de los animales en experimentación.

3.3 Planteamiento del ensayo

Se evaluaron dos manejos basados en la complementación del pastoreo, con dos dietas *unifeed* o ración completa mezclada (TMR) elaboradas en base a ensilados de cultivos invernales (tratamientos HC y RI) y ofrecidas *ad libitum* en el pesebre.

Los cultivos forrajeros utilizados para elaborar los ensilados (HC y RI) se sembraron en parcelas semejantes y colindantes y fácilmente mecanizable de 1,7 ha cada una. Una de ellas manejada con criterios de sostenibilidad medioambiental (abonado orgánico, HC) y otra bajo manejo convencional (RI). La siembra de los cultivos de invierno se realizó en septiembre de 2011. La parcela HC se sembró con un cultivo asociado de habas forrajeras y colza (*Vicia faba cv. Prothabon* y *Brassica napus cv. Fricola*, HC) con dosis de siembra de 150 kg/ha y 8 kg/ha respectivamente y la RI con 45 kg/ha de raigrás italiano no alternativo (*Lolium multiflorum cv. Barextra*, RI), que no produce espigas el primer año. El raigrás italiano recibió dos cortes para silo en primavera, el primero de ellos, la segunda semana de marzo, cuando el forraje tenía 7 semanas de crecimiento y el segundo, tras 8 semanas de crecimiento, se realizó la segunda semana de mayo coincidiendo con el corte único de la asociación habas

forrajeras y colza, estando las habas forrajeras en un estado vegetativo de vainas con grano.

En términos de abonado, la parcela RI recibió 60 UF de N, 40 UF de P_2O_5 y 120 UF de K_2O en presiembra y 70 UF de N en cobertera después del primer corte para ensilado en forma de fertilizantes de síntesis. En la parcela HC se utilizó estiércol y purín como fertilizantes orgánicos. Ambos se analizaron previamente a ser utilizados, a fin de determinar su contenido en nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) y determinar las dosis de aplicación necesarias para equilibrar los aportes de N en ambos manejos y si fuese preciso complementar con abonos químicos. Con este criterio, se aportaron 36 t/ha de estiércol y 32 m³/ha de purín para el cultivo de invierno.

En el momento de las cosechas se realizaron controles de producción delimitando dos zonas de muestreo en cada parcela, lo suficientemente distanciadas entre sí para ser consideradas como repeticiones. En la parcela RI se realizó un control de producción antes de cada uno de los dos cortes para el ensilado, lanzando un listón de 2 m cinco veces al azar, segando una franja de 0,10 m de anchura. La parcela HC se muestreó antes de la cosecha, delimitando en cada zona una superficie de 1m². Las muestras de RI y HC, fueron secadas en estufa a 60°C durante 24 h, registrándose su peso seco y posteriormente molidas a 0,75 mm y almacenadas hasta su análisis.

El RI fue ensilado en rotopacas de aproximadamente 500-600 kg y el cultivo asociado HC en dos silos trinchera de 30 m³ de capacidad cada uno.

A partir de los ensilados HC y RI se formularon dos raciones *unifeed* isoenergéticas e isoproteicas según el NRC (2001). Las raciones fueron elaboradas diariamente con carro mezclador. Los ingredientes utilizados en la formulación se detallan en la Tabla 3.1. Además del consumo en el pesebre, los animales recibieron dos concentrados (pienso L y pienso S) como suplementos energéticos en una estación de alimentación.

El pienso L se ofertó durante todo el ensayo con una cantidad fija de 3 kg de materia fresca/vaca/día, mientras que el pienso S fue ofertado a 1 kg de materia fresca/vaca y día tras el parto.

Tabla 3.1: Composición de ingredientes de la TMR y de los concentrados comerciales (porcentaje sobre materia seca)

Ingredientes (%MS)	TMR		Concentrados	
	HC	RI	Pienso L	Pienso S
Ensilado de Haba y Colza	75,33	-	-	-
Ensilado de Raigrás Italiano	-	68,45	-	-
Paja de cebada	9,38	11,99	-	-
Copos de maíz	3,87	4,95	-	-
Cebada	2,83	3,62	3,00	15,00
Maíz	1,14	1,46	50,00	40,00
Centeno	0,72	0,92	2,00	9,10
Harina de soja tostada (44%)	3,21	4,11	35,00	19,00
Cáscara de haba soja	0,46	0,58	2,00	2,00
Harina de semilla de girasol (28%)	1,27	1,63	1,80	4,20
Sales de ácidos grasos vegetales	0,49	0,62	2,55	2,19
Semilla de algodón	0,23	0,29	-	-
Pulpa de remolacha	0,23	0,29	-	-
Melaza de remolacha	-	-	1,00	2,00
Salvado de trigo	-	-	-	2,00
Carbonato de calcio	0,44	0,57	-	0,78
Bicarbonato de sodio	0,26	0,33	1,00	2,00
Cloruro de sodio	0,09	0,12	-	0,60
Fosfato bicálcico	0,02	0,03	-	0,87
Óxido de magnesio	-	-	1,00	-
Aditivos ¹	0,03	0,04	0,65	0,26

¹ Vitaminas (A, D₃, E), Oligoelementos (Hierro, Yodo, Cobalto, Cobre, Manganeseo, Zinc, Selenio), Antioxidantes (Galato de propilo, Etoxiquina, Butil-hidroxianisol, Butil-hidroxitolueno), Otros (Extracto de *Yucca schidigera*)

Con el propósito de aprovechar los recursos naturales disponibles en la propia explotación, los animales pasaban entre 12 y 16 h/día según las condiciones meteorológicas en parcelas manejadas con pastoreo rotacional, con una carga ganadera máxima de 2,5 UGM/ha, delimitadas por cierres eléctricos. Se utilizaron 8 praderas de una superficie aproximada de 1 ha, establecidas sobre suelos de textura franco arcillosa y con una composición botánica en la que predominan las gramíneas (*Lolium perenne*, 45 %; *Agrostis capilaris*, 13 %; *Bromus erectus*, 12 %; *Poa annua*, 3 %; *Poa trivialis*, 2% y *Dactylis glomerata*, 2 %) y las leguminosas (*Trifolium repens*, 17% y *Trifolium pratensis*, 2 %) y en menor proporción otra especies (*Capsella bursa pastoris*, *Diploaxis eruroides*, *Stellaria media*, *Cerastium arvense*, *Rumex obtusifolius*

y *Taraxacum officinale*). Los animales, tanto en la estabulación como en las parcelas, tuvieron libre acceso al agua.

El día previo a la entrada de las vacas en cada parcela de pastoreo, se realizó el muestreo y control de producción del forraje según la metodología descrita por Martínez-Fernández (1995) para forrajes verdes bajo sistemas de pastoreo rotacional. La técnica consiste en lanzar al azar, en sentido perpendicular de la pendiente y recorriendo en zig-zag sobre la parcela, un listón metálico de 2 metros de longitud en cinco puntos de la pradera. En cada lanzamiento se segó a ras de tierra, utilizando un cortacéspedes manual con un peine de 10 cm de anchura de corte (Bosch AGS 70), a lo largo de la vara metálica acumulando por lo tanto una muestra correspondiente a un área de 1 m² de los 5 puntos de muestreo (2 m * 0,10 m * 5 submuestras). Las muestras fueron pesadas para estimar la producción de hierba y posteriormente fueron procesadas en el laboratorio de Nutrición animal del SERIDA para conocer su contenido en principios nutritivos, digestibilidad y aporte energético.

3.4 Desarrollo experimental

3.4.1. Manejo de los animales

El experimento con los animales se puso en marcha la segunda semana de octubre hasta la segunda semana de diciembre 2012. Las vacas se seleccionaron cuando estaban a 6 semanas de la fecha prevista por el parto, considerando las 2 primeras semanas como adaptación a las condiciones del experimento. Las diferencias entre las fechas de parto predichas y reales fueron de 5 ± 3 días.

En este periodo, las vacas tuvieron acceso a su correspondiente TMR desde las 7:00 h hasta las 13:00 h, posteriormente siempre que las condiciones metrológicas permitieron el acceso al pasto fueron trasladadas a las praderas hasta las 19:00 h tras lo cual fueron conducidas nuevamente a la cuadra hasta las 21:00. Finalmente las vacas fueron trasladadas a las praderas donde permanecieron hasta las 7:00 h del día siguiente, permaneciendo por lo tanto entre 12 y 16 h por día en pastoreo y recorriendo una distancia de 600 m/día entre la estabulación y las parcelas.

Las vacas se alojaron en estabulación libre con cubículos de suelo de goma y un patio de 335 m² con libre acceso a los bebedores y comederos. Los animales fueron ordeñados tras el parto dos veces al día a las 07:30 h y a las 19:30 por medio de un

sistema voluntario de ordeño que distribuye automáticamente los piensos L y S registrándose el consumo y la producción de leche diaria de cada vaca.

Los animales fueron pesados cada 7 días y los terneros al nacimiento.

3.4.2. Control de ingestión

3.4.2.1. Ingestión de TMR

El consumo de las TMR fue registrado mediante un sistema de monitorización de la ingestión voluntaria basado en el descrito Bach *et al* (2004). El sistema consiste en el uso de 10 balanzas (Mettler Toledo IND 425-CC300), de 300 kg de capacidad de pesada con una resolución de ± 100 g, instaladas en la zona de alimentación frente a cada puesto de alimentación. Encima de cada balanza se colocó un cajón de fibra vidrio de 150 L de capacidad, que se llenaba con la oferta diaria de TMR. La entrada a cada comedero está dotada de un lector de presencia (CP-15 de Circontrol) en la parte superior derecha. Dicho lector detecta el paso de un transponder, colocado en la oreja derecha de cada vaca, cada vez que ésta accede al comedero. Registrando el tiempo de entrada y de salida, el lector permite determinar el tiempo utilizado para comer de cada animal. Simultáneamente, se registra el peso del alimento a la entrada del animal y a su salida, lo que permite, por diferencia de pesos, determinar el consumo de alimento. Los datos fueron procesados usando un programa informático desarrollado por Asturlan de Comunicaciones, SL (Gijón, Asturias).

3.4.2.2. Ingestión de piensos

El consumo de los concentrados por animal se registró automáticamente por dispensador de pienso instalado en el robot de ordeño.

3.4.2.3. Ingestión de forraje verde

La estimación de la ingestión de forraje fresco de los animales en pastoreo fue realizada por el método de estimación del consumo según los requerimientos y la respuesta productiva de los animales (energía neta) y el valor energético de todos los alimentos ofertados, descrito por Macoon *et al* (2003). La estimación de kg de MS de pasto es la diferencia entre energía neta requerida de cada animal y la energía neta

aportada por su consumo de alimento en la estabulación, dividiendo por la concentración energética de la hierba.

Los requerimientos de energía neta de los animales fueron estimados a partir de la aplicación de las ecuaciones de predicción del NRC (2001). Para dicha estimación se aplicó el siguiente procedimiento de ecuaciones donde los requerimientos de energía neta total del ganado lechero incluyen las necesidades de energía neta para:

1. Gestación (NEI_g) o lactación (NEI_L): según fuese el estado fisiológico de las vacas, una de las siguientes ecuaciones fue aplicada:

- $NEI_g = [(0,00318 * D - 0,0352) * (PTN/45)] / 0,218$, donde:

D = días en gestación entre 190 y 279 días.

PTN = Peso de ternero al nacimiento en kg.

- $NEI_L = \text{kg de leche por día} * [0,3512 + (0,0962 * \% \text{ grasa en leche})]$

2. Mantenimiento (NEI_m): se calculó en base al piso vivo del animal (PV) y el número de partos:

a) Vacas primiparas: $NEI_m = 1,2 (0,080 * PV^{0,75})$

b) Vacas de segundo parto: $NEI_m = 1,1 (0,080 * PV^{0,75})$

c) Vacas de tercer parto o más = $NEI_m = 0,080 * PV^{0,75}$

3. Cambio de peso corporal (NEI_{pv}): De acuerdo con el cambio de PV se calcularon demandas en términos de necesidades energéticas para los animales según NRC (2001). Por cada kg de PV ganado fue asignado el requerimiento de 5,12 Mcal de ENL, mientras que en el caso contrario, se restaron de las necesidades totales 4,92 Mcal de ENL por cada kg de PV perdido.

4. Actividad de Pastoreo (NEI_p): calculada según la ecuación sugerida por Rochinotti (1998):

$$NEI_p = 1,2 \text{ kcal} * \text{ tiempo de pastoreo (h)} * PV^{0,75}$$

5. Actividad de desplazamiento (NEI_d): los animales tuvieron que caminar una distancia diaria promedio de 600 metros (recorriendo desde o a la parcela de

pastoreo a la sala de ordeño una distancia de 300 metros dos veces por día). De acuerdo con el AFRC (1993), la estimación de la energía neta de esta actividad puede ser calculada usando la ecuación :

$$NE_{Id} = 0,62 \text{ cal/ (kg PV * distancia en metros)}$$

El sumatorio de las cinco estimaciones anteriores representa el requerimiento de energía neta total de cada animal. La diferencia entre los requerimientos totales de EN y la EN aportada por el consumo del TMR y los concentrados en la estabulación representa la EN desde el forraje consumido en praderas. Para realizar esta estimación, fue necesario estimar el contenido en EN de cada alimento (TMR, concentrados y forraje) y que fue calculada de la siguiente manera:

a) Forraje fresco:

La energía neta del forraje fresco fue determinada aplicando la ecuación de predicción de NRC (1988):

$$EN = (0,1569 * EM) - 0,07.$$

Donde:

EM: Energía Metabolizable (MJ/kg de MS)

El valor de la EM fue estimado según el modelo de MAFF (1984) donde se expresó el coeficiente de digestibilidad de la materia orgánica (DMO) como porcentaje de materia orgánica digestible sobre materia seca (MOD):

$$EM = K * MOD$$

Donde:

EM = Energía Metabolizable (MJ/kg de MS)

K = 0,16 (para forrajes frescos y ensilados en vacas lecheras)

MOD = Materia Orgánica Digestible (%), calculada con la formula:

$$MOD = \% \text{ Materia Orgánica} * (DMO/100)$$

Donde: DMO es la Digestibilidad en vivo de la materia orgánica (%) que se fue estimada por el método de fibra neutro detergente y celulasa (Riveros y Argamentaría, 1987).

$$\text{DMO} = 5,76 + (0,57 * \text{De}) + (0,36 * \text{FND}) + (0,5 * \text{PB}).$$

Donde:

De = Digestibilidad Enzimática de la materia orgánica (%).

FND = Fibra Neutro Detergente (% MS).

PB = Proteína Bruta (% MS).

b) TMR y Concentrados :

Igual que en el forraje verde, se utilizó la misma ecuación para calcular la energía neta de lactación de las mezclas *unifeed* y los concentrados:

$$\text{EN} = 0,1569 * \text{EM} - 0,07$$

Donde la EM (energía metabolizable en MJ/kg de MS) fue determinada tomando el valor promedio de la energía metabolizable calculada según dos ecuaciones diferente, MAFF (1984) y ADAS (1985)

$$\text{EMMAFF} = 10 * (0,012 * \text{PB} + 0,031 * \text{EE} + 0,005 * \text{FB} + 0,014 * \text{MELN})$$

$$\text{EMADAS} = 11,78 + (0,0654 * \text{PB}) + (0,0665 * \text{EE}^2) - (0,0414 * \text{EE} * \text{FB}) - (0,018 * \text{CEN})$$

Donde:

EMMAFF = Energía Metabolizable determinada según el MAFF (1984)

EMADAS = Energía Metabolizable determinada según el ADAS (1985)

PB = Proteína Bruta (%MS)

EE = Extracto Etéreo (%MS)

FB = Fibra Bruta (%MS)

CEN = cenizas (en % sobre MS)

MELN = Materiales extractivos libres de nitrógeno (%), calculados a partir de la fórmula:

$$\text{MELN} = 100 - \text{CEN} - \text{PB} - \text{EE} - \text{FB}$$

3.5 Toma y conservación de muestras

3.5.1. TMR

Las raciones TMR fueron muestreadas semanalmente, recién elaboradas, directamente de la descarga del carro mezclador antes de ser distribuidas en los comederos individuales. Para asegurar la representatividad, el peso de las muestras

siempre fue mayor de 2 kg. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de Nutrición Animal para lo cual se secaron a 60 °C durante 24 h para determinar el contenido en MS y posteriormente se molieron a 0,75 mm (*Fritsch Pulverisette 25*) para su posterior análisis de laboratorio.

3.5.2. Concentrados suplementarios

En cuanto a los concentrados suplementarios y dada su gran homogeneidad, se realizó un solo muestreo durante todo el periodo del ensayo. Las muestras fueron molidas a 1 mm de diámetro (*Fritsch Pulverisette 14*).

3.5.3. Forraje verde pastoreado

Como fue descrito anteriormente, el muestreo de las praderas se hizo según el método de Martínez Fernandez (1995) el día anterior del cambio de la entrada a la parcela. La pesada de las muestras fue importante para estimar la producción forrajera. Después de ser pesadas, se secaron a 60 °C durante 24 h para determinar su contenido de MS, se molieron en un molino *Fritsch Pulverisette 25* provisto de un tamiz de 0,75 mm de diámetro y se almacenaron en bolsas de plástico para su posterior análisis.

3.5.4. Leche

Las muestras de leche fueron tomadas cada semana; después el ordeño de tarde del martes y del ordeño de mañana del miércoles, mediante un muestreador automático acoplado al robot de ordeño en botes de polipropileno con Azidiol como conservante y se envió refrigerada a 4°C para su análisis de macrocomponentes al Laboratorio Interprofesional Lechero de Asturias (LILA, Llanera, Asturias).

Otra muestra fue tomada sin conservante y se envió al Laboratorio de Nutrición Animal del SERIDA donde se le extrajo la grasa por centrifugación (17800 durante 30 min a 4°C, Biofuge Stratos, Heraeus Instruments) según la técnica descrita por Feng *et al* (2004) y se conservó la nata en congelación (-40°C) hasta el análisis cromatográficos del perfil de los ácidos grasos.

3.6 Análisis de laboratorio

3.6.1. Alimentos

Todas las muestras de los alimentos (TMR, concentrados y forraje) fueron analizadas en el laboratorio de Nutrición Animal del SERIDA, Laboratorio Oficial del Principado de Asturias en materia de análisis de alimentos destinados al ganado, acreditado por la Entidad Nacional de Acreditación (ENAC) conforme a los criterios recogidos en la norma UNE-EN-ISO/IEC 17025 (Nº de expediente LE 930).

El contenido de materia seca, cenizas, proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), extracto etéreo (EE) y almidón de la TMR y piensos, fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente de los forrajes, se determinó por espectroscopia en el infrarrojo cercano (NIR), utilizando un equipo NIRSystem 5000. En los forrajes verdes destinados a la elaboración de ensilados en ambos manejos (HC y RI) se determinaron los parámetros que definen la ensilabilidad: MS tras 24 horas de prehenificación, azúcares solubles (Hoffman, 1937) y capacidad tampón (Playne y McDonald, 1966).

El forraje verde HC, su ensilado y las muestras de la mezcla *unifeed* basada en HC, al no existir ecuaciones de predicción NIR, fueron analizadas por vía húmeda para su fraccionamiento Weende (AOAC, 1984) y Van Soest (Van Soest *et al*, 1991)

3.6.2. Leche

El análisis general del contenido de la leche en macronutrientes: proteína, grasa, lactosa, extracto seco magro y urea se realizó en el Laboratorio Interprofesional Lechero de Asturias (LILA, Llanera, Asturias) mediante equipos de reflectancia de infrarrojo medio FTIR (infrarrojo por transformada de Fourier) acreditados por ENAC (Nº de expediente 246/LE476).

El perfil de los ácidos grasos de la leche fue determinado por cromatografía de gases de la grasa extraída por centrifugación a 17800xg durante 30 min a 4 °C (Biofuge Stratos, Heraeus Instruments). Un gramo de esta nata fue trasvasado a viales eppendorf de 1,5 ml y sometido a una ultracentrifugación a 19300xg durante 20 min a temperatura ambiente (Eppendorf centrifuge 5415R). Tras eso, se formaron tres fases: capa inferior de agua, capa intermedia de proteína y otros sólidos insolubles y capa superior de lípidos. Se tomó una alícuota de 40 mg de la capa superior para llevar a

cabo un proceso de metilación básica (Christie, 1982) que consiste en agregar 2 ml de hexano (solvente orgánico) y 40 µl de metil acetato y agitar medio minuto. Posteriormente, se adicionan 40 µl de metilato de sodio, agitar otro medio minuto y dejar reaccionar 10 min. Finalmente, se adiciona 60 µl de reactivo de terminación (1,75 ml de metanol, 0,4 ml de metilato de sodio 5,4 M). La muestra se centrifugó 5 minutos a 2400 g y a 5°C. Después la centrifugación, una alícuota de la capa orgánica superior fue tomada, de la cual se prepararon diluciones (30 µl de la muestra + 3920 µl de Hexano + 50 µl de C19:00 como estándar interno) para ser filtradas posteriormente por un filtro de 0,20 µm y analizadas finalmente por cromatógrafo de GC-MS (Varian 3800 GC- 400 MS Varian, Inc. Palo Alto, CA, USA) dotado de inyector automático y columna capilar (CP Sil 88 8100 m, 0,25 mm d.i., 0,20 mm film). Se utilizó Helio como gas transportador a un flujo de 1 ml/min. Se inyectó 1 µl de muestra en modo Split 1:100. La programación de la temperatura de la columna fue: 40°C durante 1,20 minutos, elevado a 140°C con un gradiente de 30°C/m y manteniendo durante 25 minutos, posteriormente elevada a 190°C con un gradiente de 1°C/m y manteniendo durante 15 minutos, después, otra elevación hasta los 215°C con un gradiente de 1°C/m durante 8 minutos. Finalmente, elevada con un gradiente de 30°C/m hasta los 240°C y manteniendo durante 1 minuto. La temperatura del detector se mantuvo a 225°C. Los picos cromatográficos fueron identificados utilizando estándares de ésteres metílicos (Me Matreya Inc., Sigma Aldrich Inc).

3.7 Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos fueron realizados mediante el paquete estadístico SAS (1999) utilizando las vacas como unidad experimental. Los datos fueron analizados usando el PROC MIXED con las vacas como efecto aleatorio y la semana como medida repetida. Semana y tratamiento (HC y RI) y su interacción fueron incluidos en el modelo como efecto fijo. Las diferencias entre medias fueron comparadas utilizando el test de Tukey.

RESULTADOS

3. RESULTADOS

En el año agronómico 2012, cuando se llevó a cabo tanto el cultivo forrajero y su ensilado y el ensayo *in vivo*, la temperatura media fue de 13,5°C, con una media de las máximas de 17,6°C y de las mínimas de 9,6°C. La precipitación fue de 720 mm distribuidos en 196 días de lluvia. Mientras que los valores térmicos se situaron dentro de la normalidad, la cantidad de lluvia caída fue un 36% inferior al dato medio de los valores históricos desde 1978.

4.1. Producción forrajera

En la tabla 4.1 se muestra la producción forrajera del cultivo de invierno (HC vs. RI), del cultivo de verano y de la rotación completa en dos manejos diferentes: convencional y sostenible.

En el cultivo de invierno, la parcela sostenible sembrada con la asociación forrajera de habas y colza (HC) presentó mayor producción de materia seca por hectárea en un solo corte que los dos cortes acumulados del RI (9,82 vs. 7,88 tMS/ha respectivamente), aunque sin diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$). El primer corte del RI realizado en la segunda semana de marzo, produjo 3,69 tMS/ha y el segundo corte realizado ocho semanas después, produjo 4,20 tMS/ha (Figura 4.1)

En el cultivo de verano, el rendimiento de materia seca del maíz resultó un 22% superior en el manejo sostenible que en el convencional (12,95 vs. 10,59 tMS/ha respectivamente) aunque esta diferencia no llegó a ser significativa.

Tabla 4.1: Producción forrajera durante el año agronómico del estudio (cultivo de invierno + cultivo de verano) en dos sistemas de manejo: Convencional vs. Sostenible

	Sostenible	Convencional	rsd ²	P ³
Cultivo de invierno (t/ha)¹	9,82	7,88	0,921	NS
Maíz (t/ha)	12,95	10,59	1,050	NS
Malas hierbas (t/ha)	0,28	1,42	0,170	**
Producción total (t/ha)	22,77	18,47	0,923	NS

¹ Convencional: Raigrás italiano, Sostenible: Haba-Colza. ² Desviación estándar residual. ³ Nivel de significación: NS = $P>0,05$; ** = $P<0,01$

El crecimiento de la flora adventicia asociada al cultivo de verano fue significativamente menor ($p < 0,01$) en el manejo sostenible (0,28 tMS/ha) comparado con el manejo convencional (1,42 t MS/ha), lo que se puede achacar al poder herbicida de la colza del cultivo asociado anterior, que demostró más efectividad que los herbicidas sintéticos teniendo en cuenta, además, que la dosis de herbicida en el manejo sostenible fue la mitad que en el manejo convencional. En la separación botánica de las muestras de especies arvenses (malas hierbas) destacó la presencia significativa de especies como *Amaranthus retroflexus*, *Convolvulus arvensis*, *Chenopodium album*, *Chenopodium spp.*, *Agropyron repens*, *Digitalia sanguinalis*, que compitieron con el maíz por la disponibilidad de los nutrientes.

Considerando la producción de materia seca de la rotación completa, la asociación forrajera HC en rotación con el maíz forrajero y manejado con un sistema sostenible (fertilización orgánica y bajo inputs de herbicidas) permitió obtener 4 toneladas anuales más de materia seca por hectárea que la rotación RI con el maíz en el manejo convencional, considerando como no aprovechable la biomasa seca de las malas hierbas (22,8 vs. 18,5 tMS/ha respectivamente; $P=0,08$).

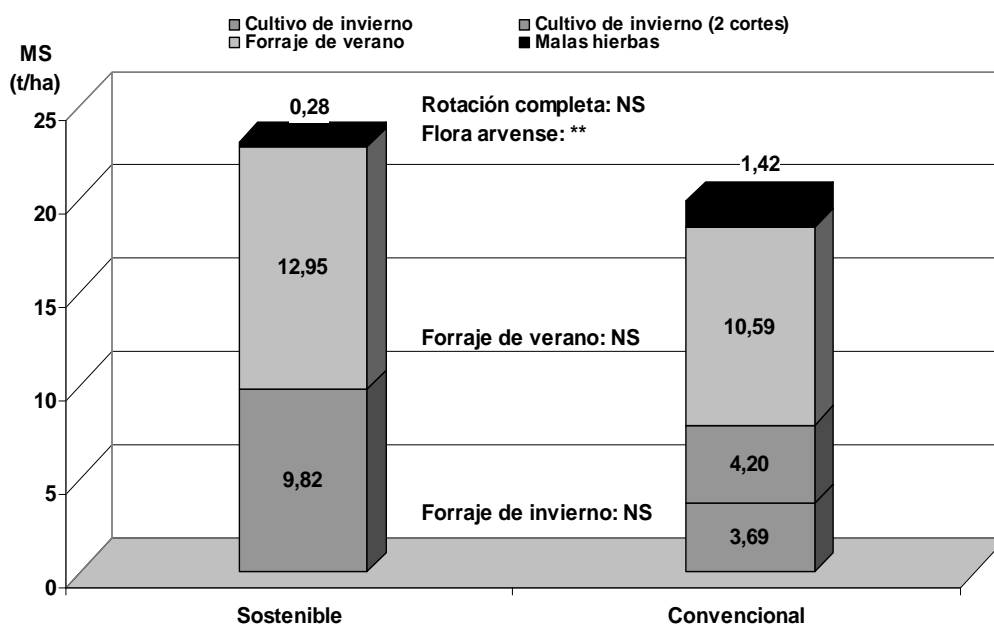


Figura 4.1: Producción forrajera (tMS/ha) de los cultivos forrajeros de invierno (asociación haba y colza en manejo sostenible o raigrás italiano en manejo convencional), de verano (maíz) y flora arvense. **= $P < 0,01$

4.2. Valor nutritivo y aporte energético de los forrajes

Se puede observar en la Tabla 4.2, la calidad nutritiva de los cultivos de invierno (HC y RI) y de verano (maíz) según su manejo: convencional o sostenible.

Tabla 4.2. Valor nutritivo y aporte energético de los forrajes en corte directo en manejo convencional (raigrás italiano + maíz) y manejo sostenible (habas-colza + maíz).

		Sostenible	Convencional	rsd ²	P ³
Cultivo de Invierno 1	MS (%)	15,05	15,84	0,287	NS
	CEN (%MS)	11,73	8,54	0,615	*
	PB (%MS)	16,57	10,00	1,040	*
	FND (%MS)	51,27	41,08	1,539	*
	FAD (%MS)	43,75	19,19	0,524	***
	DMO (%)	64,06	80,80	0,834	***
	EM (MJ/kg MS)	9,05	11,82	0,052	***

Cultivo de verano (Maíz)	MS (%)	28,13	29,87	0,797	NS
	CEN (%MS)	4,46	3,67	0,247	NS
	PB (%MS)	7,93	7,46	0,300	NS
	FND (%MS)	50,07	49,38	1,486	NS
	ALM (%MS)	21,47	21,01	1,293	NS
	DMO (%)	72,72	72,91	0,854	NS
	EM (MJ/kg MS)	11,12	11,24	0,120	NS

¹ Convencional: Raigrás Italiano (RI); Sostenible: Cultivo asociado de habas forrajeras y colza (HC);
² Desviación estándar residual; ³ Nivel de significación: NS = P>0,05, no significativo; * = P<0,05; ** = P<0,01; *** = P<0,001. **MS**: materia seca, **CEN**: cenizas, **PB**: proteína bruta, **FND**: fibra neutro detergente, **FAD**: fibra ácido detergente, **ALM**: almidón, **DMO**: digestibilidad estimada *in vivo* de la materia orgánica. **EM**: energía metabolizable.

El cultivo asociado HC mostró una mayor proporción de cenizas que el promedio de los dos cortes de RI (11,7 vs. 8,5% respectivamente. P<0,05). Como cabría esperar, el forraje HC dio un porcentaje de PB superior al 16% debido a la presencia de la leguminosa. En cambio, el RI ese año tuvo un contenido proteico un poco inferior a lo habitual (10% de PB, P<0,05). Esto, lo atribuimos a las condiciones climáticas que

acompañaron la fase final del desarrollo del cultivo con una importante sequía. La colza es una planta crucífera caracterizada por unos tallos de hasta 150 cm, ramificados en la parte superior. Dichos tallos son fibrosos y su presencia en la asociación forrajera repercutió en un mayor contenido de FND y FAD en HC en comparación con el RI (51,3 vs. 41,1% FND para HC y RI respectivamente; $P < 0,05$ y 43,8 vs. 19,2% FAD para el HC y RI respectivamente; $P < 0,001$). Como consecuencia, el cultivo de la asociación forrajera de HC presentó un valor de digestibilidad de materia orgánica significativamente inferior respecto al RI (64,1 vs. 80,8% respectivamente; $P < 0,001$) y por lo tanto un menor aporte energético (9,1 vs. 11,8 MJ EM/kg MS para el HC y RI respectivamente; $P < 0,001$).

La estimación del coeficiente de fermentabilidad según la ecuación propuesta por Weissbach y Honig (1996) resulta igual para ambos tipos de forraje (35,9) por lo que se pueden clasificar como forrajes de alta ensilabilidad. Ahora bien, aplicando el modelo cuantitativo de índice de ensilabilidad adaptado a forrajes de áreas templado-húmedas (Martínez-Fernández *et al*, 2013), la menor concentración de azúcares solubles de la asociación forrajera de haba y colza frente al raigrás italiano en monocultivo (8,5% vs. 29,8% respectivamente) clasifica a este forraje como de media ensilabilidad, mientras que el raigrás italiano queda enmarcado como forraje de alta ensilabilidad.

Respecto al maíz, no se apreciaron diferencias significativas entre ambos tipos de manejo ($P > 0,05$) resultando el valor nutritivo de los dos manejos prácticamente iguales.

En las Figuras 4.2, 4.3 y 4.4 se muestran el rendimiento de las rotaciones completas en base a producciones de PB, EM y MOD por hectárea según manejo. Los kg de PB/ha en el manejo sostenible fueron un 46% y un 30% superiores a los obtenidos en el manejo convencional con los forraje de invierno y el maíz respectivamente (Figura 4.2). Estas producciones indujeron una tendencia ($P = 0,08$) a una mayor producción total de proteína bruta por hectárea en la rotación completa.

El menor aporte energético de la asociación HC se vio compensado por la mayor producción obtenida, de manera que no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el valor energético producido (93 vs. 89,9 GJ/ha, para RI y HC respectivamente) la mayor producción de maíz en el manejo sostenible indujo a una producción de 26 GJ/ha más que en el manejo convencional. Los GJ de EM/ha de la

rotación completa fueron un 10% superiores en el manejo sostenible que en el convencional, aunque sin diferencias significativas respecto al manejo convencional ($P>0,05$).

Comparando el rendimiento anual de materia orgánica digestible (MOD) en dos manejos, se puede observar que la baja digestibilidad del forraje de la asociación habas-colza resultó en 3 t/ha de MOD menos en el manejo sostenible que en el manejo convencional ($P<0,01$). En contraste, en el cultivo de verano, el rendimiento de MOD en el manejo sostenible fue numéricamente mayor que en el manejo convencional de forma que en la rotación completa no se observaron diferencias significativas ($P>0,05$).

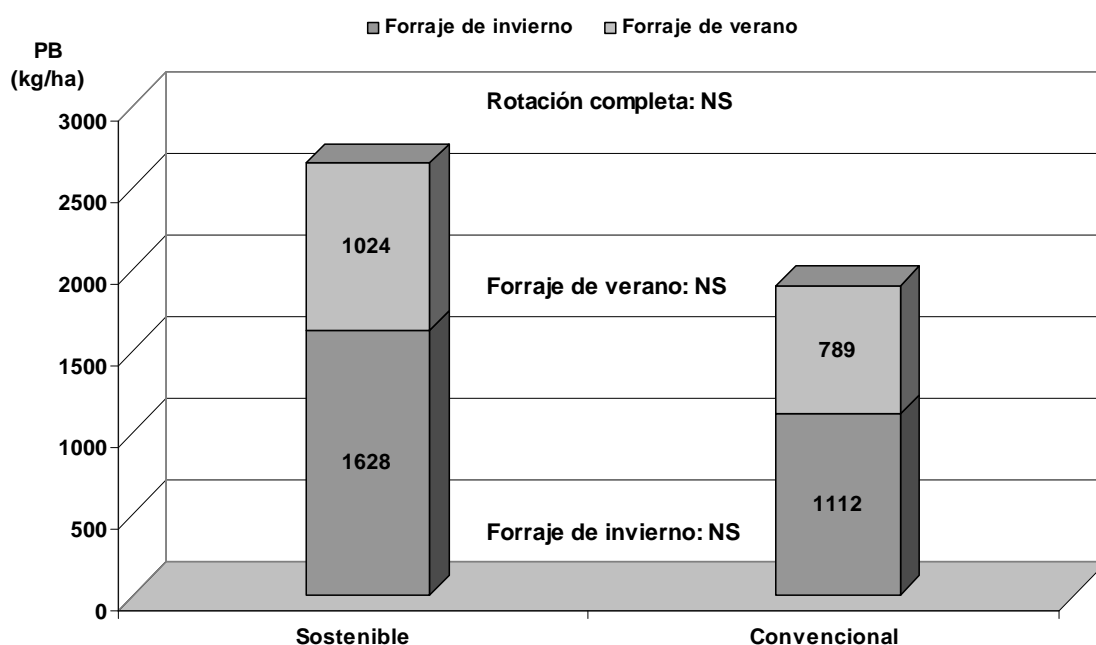


Figura 4.2: Rendimiento en Proteína Bruta (PB) en kg/ha de los cultivos forrajeros de invierno (asociación haba y colza en manejo sostenible o raigrás italiano en manejo convencional) y de verano (maíz).

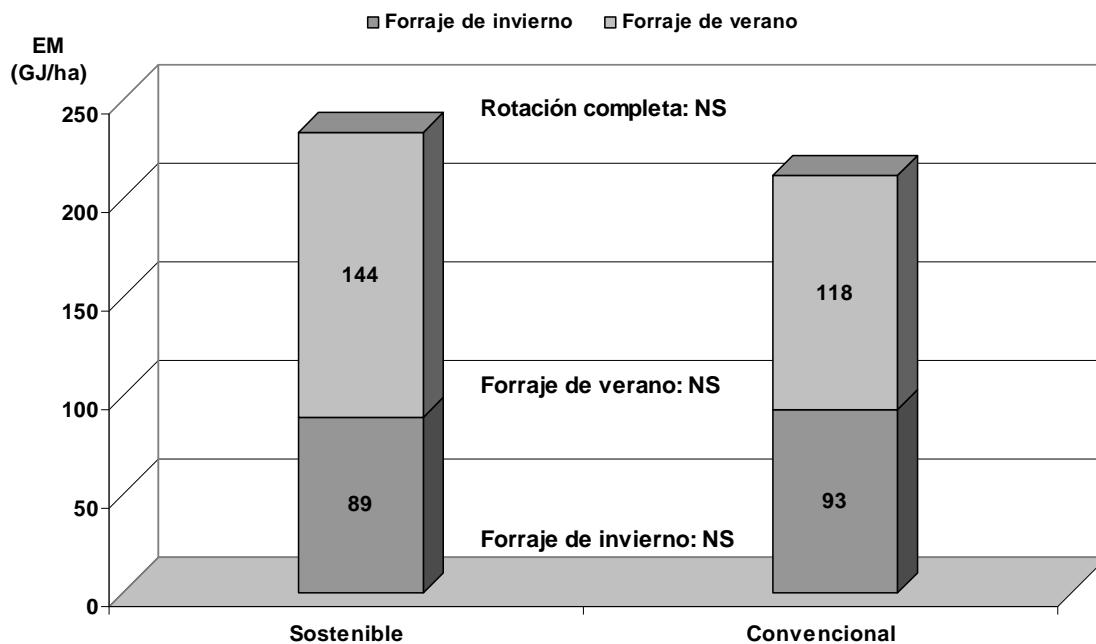


Figura 4.3: Rendimiento en Energía Metabolizable (EM) en GJ/ha de los cultivos forrajeros de invierno (asociación haba y colza en manejo sostenible o raigrás italiano en manejo convencional) y de verano (maíz).

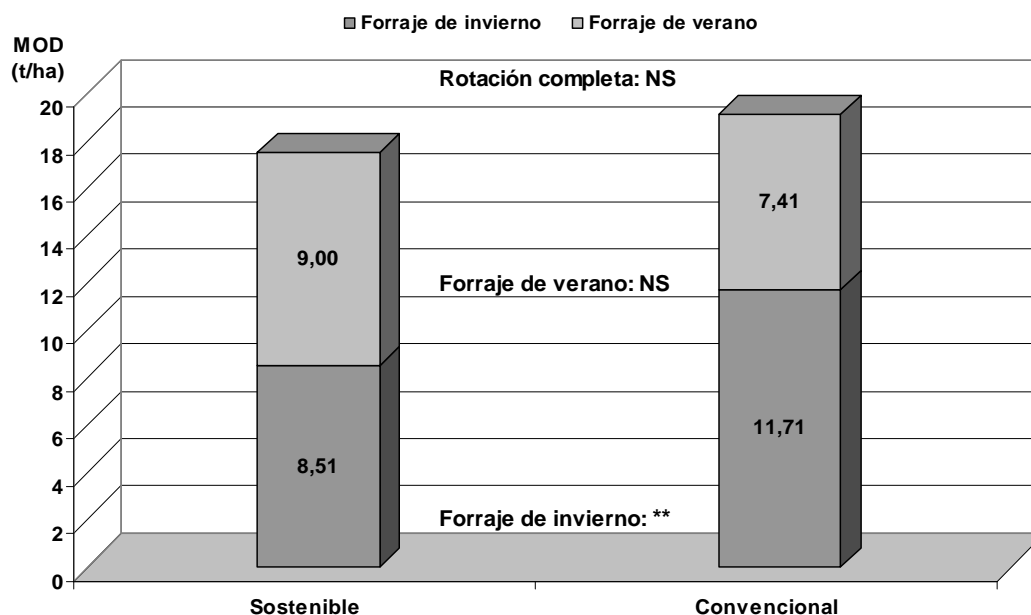


Figura 4.4: Rendimiento en Materia Orgánica Digestible (MOD) en t/ha de los cultivos forrajeros de invierno (asociación haba y colza en manejo sostenible o raigrás italiano en manejo convencional) y de verano (maíz). **= $P < 0,01$.

4.3. Características del suelo agrícola

En la analítica del suelo, se observó que la evolución de la materia orgánica (MO) a lo largo del año agronómico no se vio afectada por el tipo de manejo, ya que no mostró diferencias entre cultivos, estando siempre encima del 2%, dato que refleja una buena fertilidad del suelo y garantiza una correcta implantación y desarrollo de los cultivos en ambos manejos (Figura 4.5). El pH en la parcela convencional bajó gradualmente un punto (de 7 a 6), sin diferencias significativas comparado con su evolución en la parcela sostenible que se mantuvo estable.

En la Figura 4.6 se observa que la concentración del fósforo asimilable (P) en el suelo se mantuvo estable independientemente del tipo del manejo durante el año agronómico, indicando niveles elevados de fertilidad. No obstante, la concentración del potasio (K) en manejo sostenible, se incrementó significativamente a lo largo del período de estudio, pasando de un suelo clasificado como de fertilidad baja a fertilidad alta según Martínez-Fernández y Argamenteoría (2012). La evolución del contenido en K refleja el efecto de la fertilización orgánica, rica en K, así como la extracción del mismo de las capas profundas del suelo por parte de la colza.

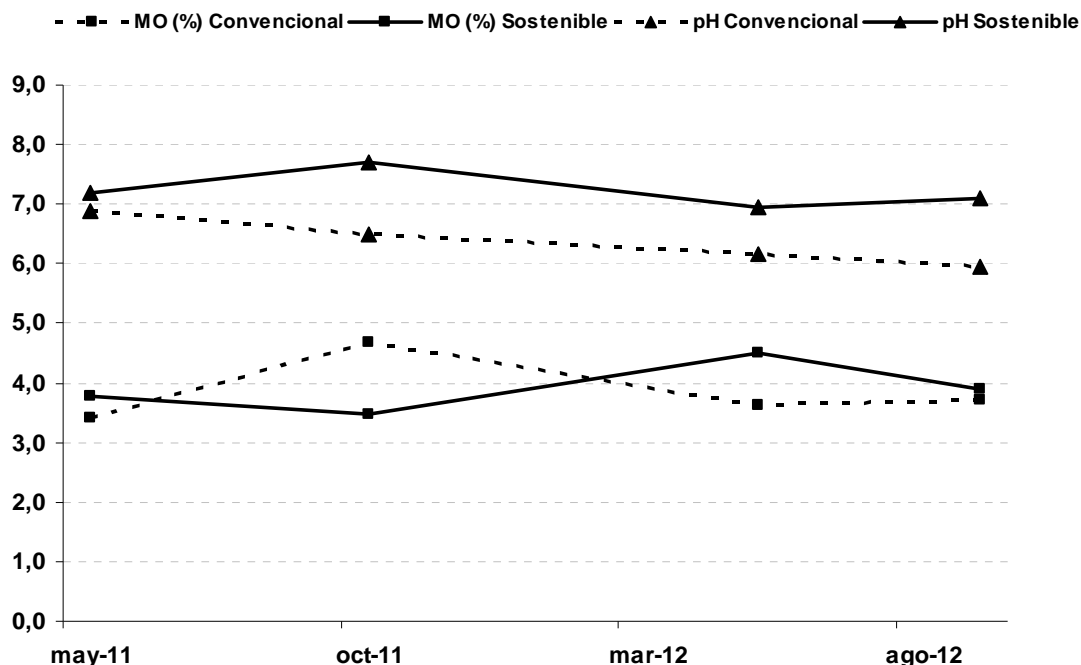


Figura 4.5: Evolución en el suelo de la materia orgánica y el pH según manejo convencional vs. sostenible.

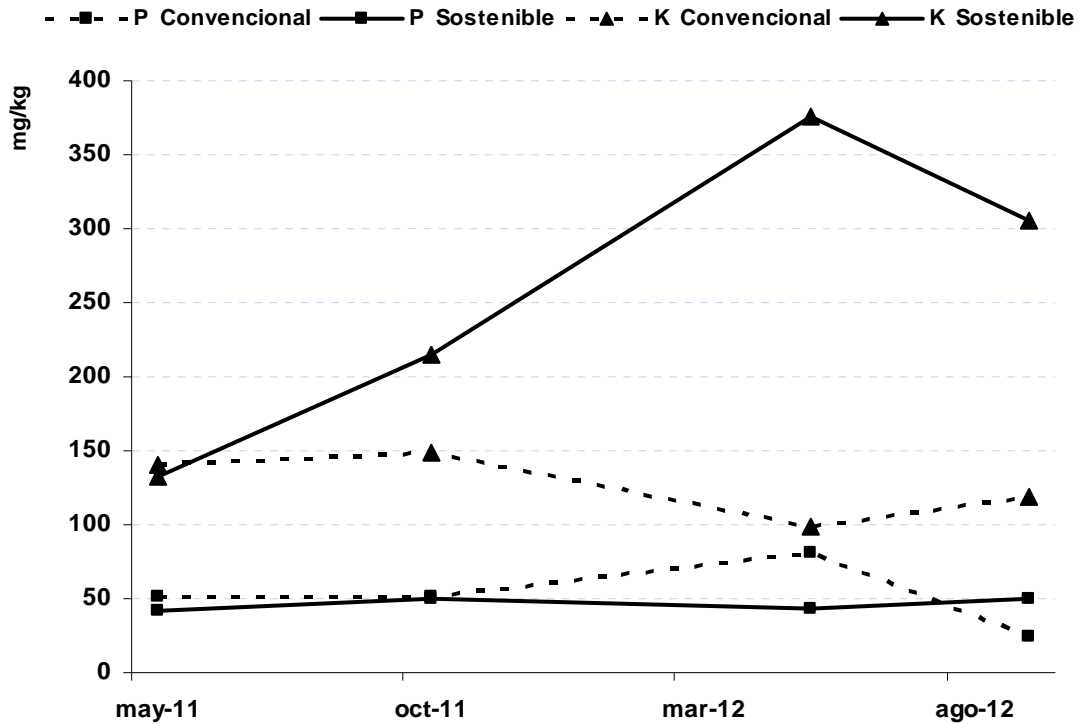


Figura 4.6: Evolución en el suelo de las concentraciones de fósforo (P) y el potasio (K) según el manejo convencional vs. sostenible

4.4. Composición química de las dietas

La composición química y el contenido energético de los dos ensilados elaborados a partir de la asociación forrajera de haba y colza (HC) y a partir del raigrás italiano (RI) se presentan en la tabla 4.3. Conforme a lo observado sobre los forrajes verdes de partida, el ensilado del HC presentó un mayor contenido en proteína que el ensilado del RI, y mayor contenido en FND y por lo tanto menor digestibilidad de la materia orgánica y contenido energético.

El diferente valor nutritivo de los ensilados condujo a formular la ración TMR basada en RI con un 21,8% más de concentrado que cuando se utilizó ensilado HC para que ambas raciones fueran isoenergéticas e isoproteicas (Tabla 4.4). Por lo tanto, la relación forraje:concentrado en la TMR HC fue de 85:15, mientras que en la TMR RI fue de 80:20.

Tabla.4.3: Valor nutritivo (%MS) y contenido energético estimado de los ensilados de haba+colza (HC) y raigrás italiano (RI).

Ensilado (%MS)	HC	RI
Materia Seca *	30,05	24,20
Materia Orgánica	91,54	89,60
Proteína Bruta	14,48	10,71
Fibra Neutro Detergente	63,29	47,55
Digestibilidad de materia orgánica	58,20	72,41
Energía Metabolizable (MJ/kg MS)	8,52	10,37
Energía Neta de lactación (Mcal/kgMS)	1,27	1,56

* El forraje en ambos manejos fue ensilado tras 24 horas de prehenificación

Tabla 4.4: Composición de ingredientes, valor nutritivo (%MS) y aporte energético estimado de las mezclas TMR.

Mezclas TMR	HC	RI
Ingredientes (%MS)		
Ensilado de Haba+Colza	75,33	---
Ensilado de raigrás italiano	---	68,45
Paja de cebada	9,38	11,99
Concentrado ¹	15,29	19,56
Valor nutritivo (%MS)		
Materia Seca	34,39	29,66
Materia Orgánica	89,45	89,43
Proteína Bruta	12,03	12,20
Fibra Neutro Detergente	61,79	53,34
Energía Neta de lactación (Mcal/kgMS)	1,38	1,42

¹ Ver Tabla 3.1 para la composición de ingredientes del concentrado.

En la estabulación, las vacas además de su correspondiente TMR según el tratamiento HC o RI al que fueron asignadas, recibieron dos tipos de concentrados

comerciales: L y S. El concentrado L fue ofertado a cantidad fija durante todo el ensayo y el S a partir del parto. En la Tabla 4.5 se muestra la composición química de dichos concentrados. Se muestra asimismo, la composición química de la hierba pastada según las muestras tomadas durante el ensayo.

Tabla 4.5: Valor nutritivo (%MS) y aporte energético estimado de los concentrados suplementarios L y S y de la hierba pastoreada.

	Conc. L	Conc. S	Pasto
Materia Seca	87,46	87,75	19,42
Materia Orgánica	92,82	91,87	87,89
Proteína Bruta	19,71	18,37	19,66
Fibra Neutro Detergente	20,94	22,95	55,32
Energía Neta de lactación (Mcal/kgMS)	1,88	1,83	1,43

Ambas raciones TMR resultaron, como estaba previsto, isoenergéticas (1,40 Mcal ENI/kgMS) e isoproteicas (12,1% de PB sobre MS), según la composición de ingredientes utilizados. Los dos concentrados estaban formulados con el objetivo de incrementar el valor proteico y energético de la dieta completa. La composición de la hierba resultó dentro de los parámetros habituales de la hierba de pradera de otoño.

4.5. Consumo de materia seca

Las dos mezclas *unifeed* fueron ofertadas *ad libitum*, observándose en ambos casos una buena aceptabilidad por los animales, algo superior en las vacas que consumieron mezcla *unifeed* basada en ensilado de raigrás italiano. El porcentaje de rehúso de la mezcla RI fue de 2,8% y el de la mezcla HC de 5,7%. Antes del parto, el consumo de materia seca (Tabla 4.6) de la mezcla *unifeed* RI fue mayor que la ingestión de mezcla *unifeed* HC (10,3 vs. 6,8 kgMS/día; $P < 0,001$). Los consumos de concentrado L fueron similares entre tratamientos. Sin embargo, las vacas que consumían la mezcla *unifeed* HC compensaron la diferencia de ingestión de *unifeed* con una mayor ingestión de hierba (7,1 kg MS/día), mientras que los animales que consumían la mezcla *unifeed* RI presentaron una baja ingestión de hierba durante el preparto (3,2 kg MS/día), aunque

la elevada variabilidad individual entre animales, impidió la aparición de diferencias significativas a pesar de la gran diferencia numérica entre tratamientos. Por lo tanto, el consumo total de MS se compensó en ambos tratamientos, con unas ingestiones totales de materia seca de 15,7 y 13,2 kg al día en los tratamientos HC y RI respectivamente ($P>0,05$).

Tras el parto, se observó un descenso en la ingestión de mezcla RI (10,3 vs. 8,7 kg MS/día antes y después del parto respectivamente; $P<0,05$), mientras que se mantuvo la ingestión de mezcla HC (6,8 vs. 6,9 kg MS/día antes y después del parto respectivamente; $P>0,05$). La ingestión de concentrado L se incrementó significativamente tras el parto en ambos tratamientos (1,7 vs. 2,4 kg MS/día en el preparto y postparto respectivamente, $P<0,001$) sin diferencias entre ellos. El consumo de concentrado S, que se ofertó tras el parto, también fue igual en ambos tratamientos (0,69 kg MS/día).

La ingestión de hierba mostró una interacción entre el tratamiento y el periodo de la transición. La ingestión de hierba tras el parto descendió un 45% en el tratamiento HC, mientras que en el tratamiento RI se incrementó un 80%, pasando de 3,2 kg MS/día antes del parto a casi 8 kg MS/día tras el parto.

Tabla 4.6: Consumo diario (kgMS/d) de mezclas TMR, concentrados suplementarios (L y S), hierba y total en cada uno de los tratamientos (HC y RI), antes y después del parto.

Dieta (D) ¹	HC		RI		rsd ³	Sig. ³		
	Preparto	Postparto	Preparto	Postparto		D	P	D*P
TMR	6,84	6,91	10,25	8,66	0,335	***	NS	NS
L	1,80	2,38	1,56	2,36	0,035	NS	***	NS
S	-	0,70	-	0,68	0,021	NS	***	NS
Hierba	7,10	3,20	1,65	7,93	0,801	NS	NS	**
Total	15,73	13,19	13,46	19,62	0,796	NS	NS	**

¹ Efecto dieta: TMR con haba y colza (HC); TMR con Raigrás Italiano (RI); ² Efecto periodo: Pre y postparto; ³ Desviación estándar residual; ³ Nivel de significación: NS = $P>0,05$, no significativo; ** = $P<0,01$; *** = $P<0,001$.

En la Figura 4.7 se muestra la evolución desde la semana 4 antes del parto a la semana 4 después del parto de la ingestión de cada uno de los componentes de la dieta completa. Se puede observar que el consumo de la mezcla *unifeed* RI fue superior que el de la mezcla *unifeed* HC en todas las semanas del ensayo, con un descenso tras el parto de la mezcla *unifeed* RI, cuya ingestión se mantiene estable posteriormente. En lo que respecta al consumo de hierba, éste fue siempre superior en el tratamiento HC que en el RI en las semanas previas al parto. Ahora bien, tras el parto, las vacas del grupo RI incrementaron rápidamente el consumo de hierba, mientras que las vacas del grupo HC mostraron una ingestión relativamente baja de hierba. Tras el parto, en ambos grupos la ingestión de materia seca total fue recuperándose, si bien, los animales que consumían HC mostraron un menor ritmo de recuperación de la ingestión, por lo que tras 4 semanas postparto, la ingestión total en el tratamiento RI fue mayor que en tratamiento HC (18,9 vs. 15,5 kg MS/día respectivamente, $P < 0,01$; Figura 4.7).

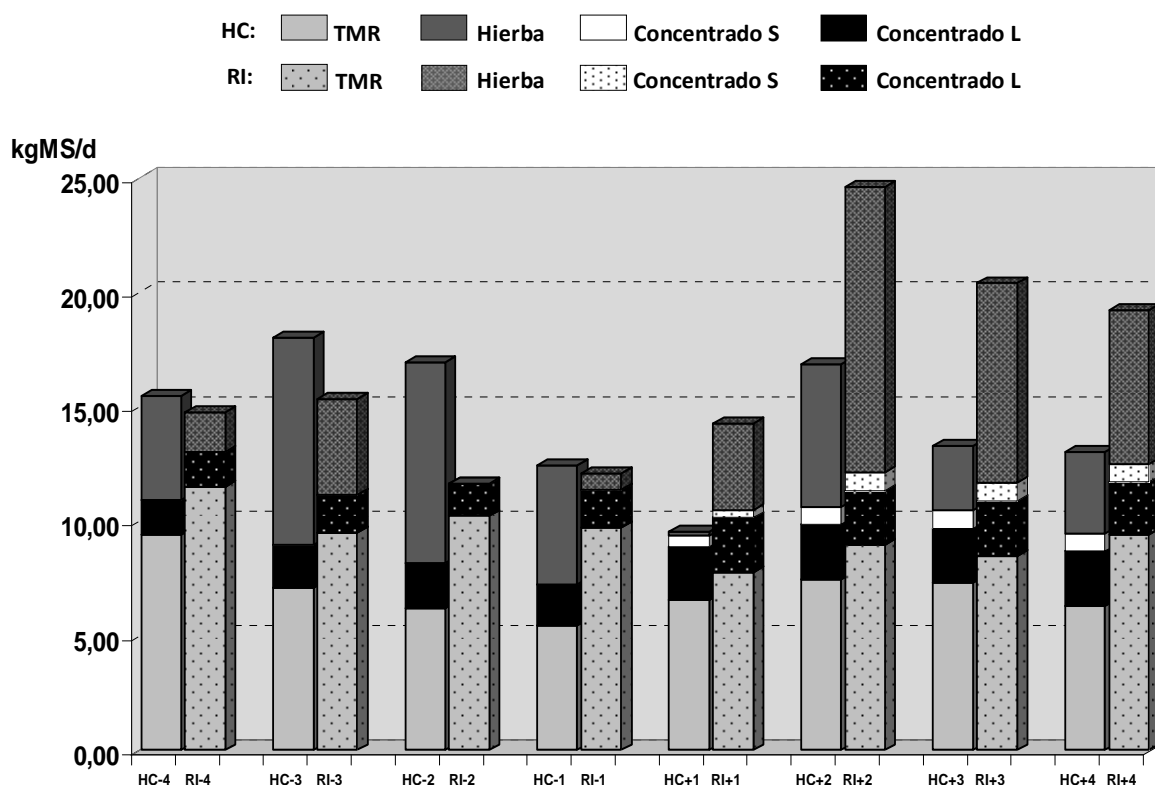


Figura 4.7: Consumo semanal (kg MS/d) de las mezclas TMR, de los concentrados L y S y de la hierba en los dos tratamientos (HC y RI)

4.6. Variación de peso vivo y condición corporal

La Figura 4.8 muestra la evolución del peso medio del grupo en los dos tratamientos. Al final de gestación, se puede ver que las vacas tanto en tratamiento HC como en el tratamiento RI ganaron peso vivo (50-90 kg) debido al crecimiento fetal, sin diferencias significativas entre tratamientos. Tras el parto se produjo el esperado brusco descenso del peso vivo. Ahora bien, mientras que los animales con el tratamiento RI mantuvieron el peso durante las siguientes cuatro semanas, las vacas con el tratamiento HC mostraron un descenso continuo en el peso vivo.

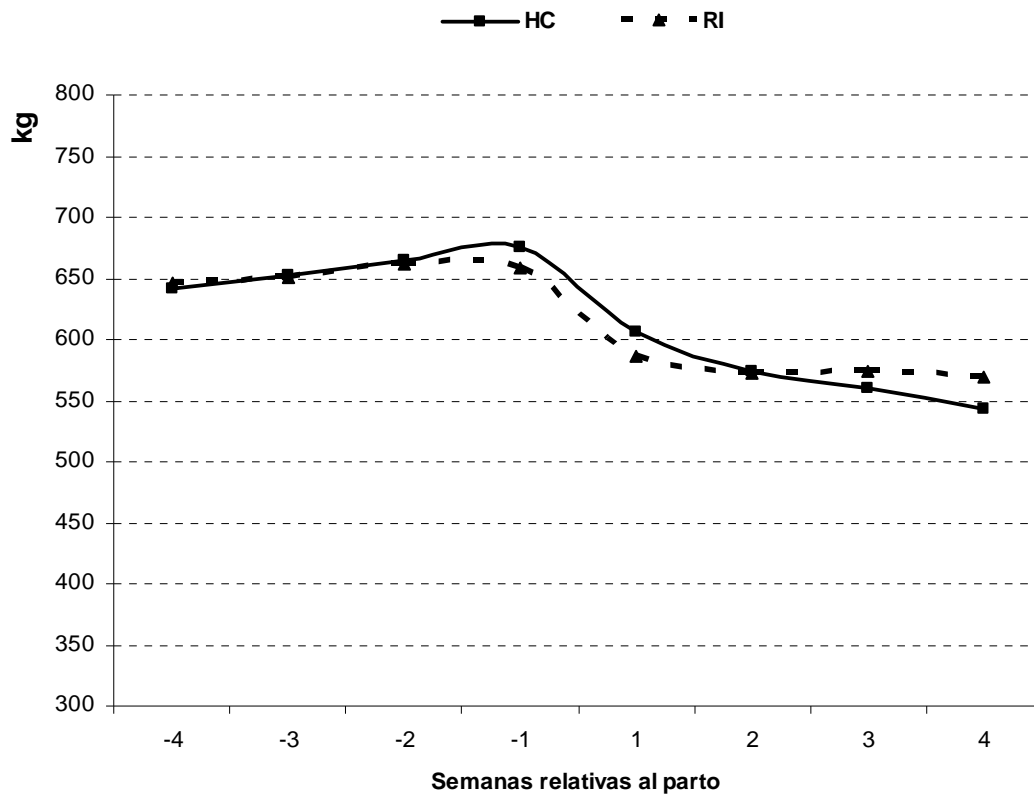


Figura 4.8: Evolución del peso vivo de los animales en dos manejos durante las cuatro semanas antes y después del parto.

La condición corporal de los animales se mantuvo estable a lo largo del ensayo y sin diferencias entre tratamiento. En las semanas previas al parto fue de 2,75 y descendió tras las dos primeras semanas de lactación a 2,25.

4.7. Producción y composición de la leche tras el parto

En cuanto a la producción de leche, medida a partir del tercer día postparto, se puede observar en la Figura 4.9 que no se apreciaron diferencias entre tratamientos. La primera semana de lactación, ambos grupos, produjeron 24 kg leche/día, elevándose a 29 kg/día la segunda semana y a 30 kg/día a partir de la tercera. La producción media diaria de ambos grupos en las cuatro primeras semanas de lactación fue de 28,3 kg/día, sin diferencias entre tratamientos (Tabla 4.7). La concentración de grasa en las vacas con tratamiento RI fue superior a la de las vacas con tratamiento HC (4,4 vs. 3,9 % de grasa respectivamente, $P < 0,05$). Esta diferencia se mantuvo constante a lo largo de las cuatro primeras semanas de lactación (Figura 4.10). Tanto la concentración de proteína como de lactosa y extracto seco magro no se vieron afectadas por el tratamiento (3,3 % de proteína, 4,7% de lactosa y 8,8% de extracto seco magro). La concentración de proteína mostró una evolución descendente en las primeras semanas de lactación, con valores de 3,7% la primera semana, descendiendo posteriormente hasta el 3,0% de proteína en la última semana del ensayo ($P < 0,05$).

Tabla 4.7: Producción diaria, composición y rendimiento de la leche en las cuatro primeras semanas de lactación en cada uno de los tratamientos (HC y RI).

	HC	RI	rsd ¹	P ²
kg Leche/d	28,14	28,49	0,562	NS
% Grasa	3,91	4,36	0,083	*
% Proteína	3,31	3,26	0,072	NS
% Lactosa	4,68	4,71	0,044	NS
% ESM	8,98	8,87	0,082	NS
kg Grasa/d	1,10	1,24	0,032	*
kg Proteína/d	0,92	0,92	0,024	NS
kg Lactosa/d	1,32	1,35	0,034	NS

¹ desviación estándar residual. ²: nivel de significación; NS: $P > 0,05$; *: $P < 0,05$;

Aunque la producción de leche fue igual en ambos tratamientos, la mayor concentración de grasa de la leche en el tratamiento RI indujo a un mayor rendimiento lechero medido como kilos de grasa producida (1,10 vs. 1,24 kg grasa/día para los

tratamientos HC y RI respectivamente, $P < 0,05$). No se observaron diferencias cuando se calculó el rendimiento en proteína y lactosa.

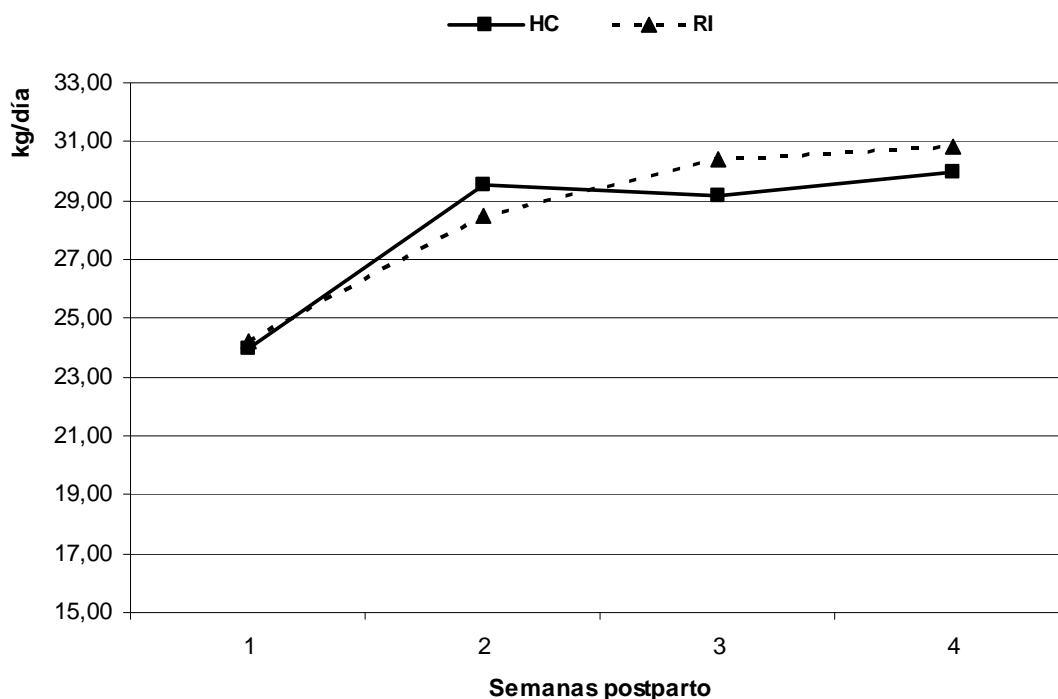


Figura 4.9: Evolución de la producción de leche según tratamiento (dieta HC o dieta RI) en 4 semanas postparto.

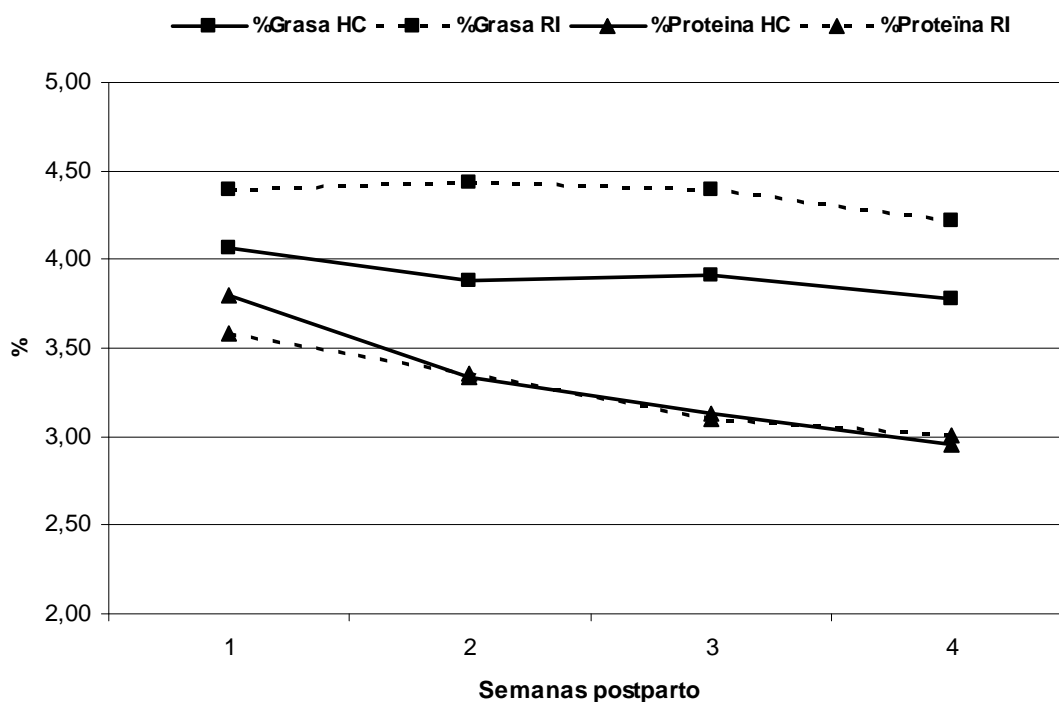


Figura 4.10: Evolución del contenido lechero en grasa y proteína (en %) según tratamiento (dieta HC o dieta RI) durante las primeras 4 semanas postparto.

4.8. Perfil de ácidos grasos de la leche tras el parto

El efecto de la alimentación con dietas basadas en haba y colza forrajeras o raigrás italiano sobre el perfil de ácidos grasos de la grasa de la leche de las vacas frisonas tras el parto se describe en la Tabla 4.8. Los ácidos grasos de cadena corta (de 6 a 13 átomos de carbono) no se vieron afectados por el tratamiento, mientras que la concentración de ácidos grasos de cadena media (entre 14 y 16 átomos de carbono) fue significativamente superior en el tratamiento RI (51,0 vs. 56,7 gAG/100gAG para los tratamientos HC y RI respectivamente; $P < 0,001$). Esta diferencia es debida fundamentalmente a la elevada concentración de ácido palmítico en el tratamiento RI (38,1 gAG/100gAG) frente al tratamiento HC (33,8 gAG/100gAG; $P < 0,01$).

El total de ácidos grasos de cadena larga (más de 18 átomos de carbono) se vio igualmente afectado por el tratamiento ($P < 0,05$) con una mayor concentración en el tratamiento HC (35,5 gAG/100gAG) que en el RI (28,5 gAG/100gAG). La concentración individual de todos los ácidos grasos de cadena larga en la grasa de la leche fue mayor en las vacas alimentadas con la dieta HC. La concentración de ácido linolénico (18:3 n-3) se duplicó con dicho tratamiento (0,9 vs. 0,4 gAG/100gAG para los tratamientos HC y RI respectivamente; $P < 0,001$) y la de ácidos linoleico (18:2 n-6; $P < 0,01$) y oleico ($P < 0,05$) también resultaron superiores. Los productos intermedios de la biohidrogenación ruminal de los ácidos linolénico y linoleico también duplicaron su concentración en la grasa de la leche de los animales alimentados con la asociación forrajera de haba y colza (0,7 gAG/100gAG de CLA (18:2cis9-trans12) y 1,7 gAG/100gAG de ácido vaccénico) que en la leche de los alimentados con raigrás italiano (0,3 gAG/100gAG de CLA; $P < 0,001$, y 0,9 gAG/100gAG de ácido vaccénico; $P < 0,001$). El producto final de la biohidrogenación, el ácido esteárico, también presentó una concentración mayor ($P < 0,05$) en el tratamiento HC (19,0 gAG/100gAG) que en el tratamiento RI (16,1 gAG/100gAG).

No se observaron diferencias en la proporción de ácidos grasos saturados entre tratamientos. Tampoco se observaron diferencias en el total de ácidos grasos monoinsaturados, sin embargo, la proporción de ácidos grasos poliinsaturados fue superior en los animales alimentados con ensilado de haba y colza forrajera que en aquellos alimentados con ensilado de raigrás italiano (3,5 vs. 2,0 gAG/100gAG respectivamente; $P < 0,001$).

Tabla 4.8: Perfil de ácidos grasos (g AG/100g AG) de la grasa de leche en los dos tratamientos (HC y RI).

		HC	RI	rsd ¹	P ²
Ácido Caprónico	6:0	3,10	2,90	0,105	NS
Ácido Caprílico	8:0	1,29	1,23	0,051	NS
Ácido Cáprico	10:0	4,59	4,99	0,257	NS
Ácido Undecenoico	11:1 cis10	0,06	0,05	0,006	NS
Ácido Laurico	12:0	4,64	5,40	0,298	NS
Ácido Tridecenoico	13:1 cis2	0,05	0,10	0,014	NS
Ácido Mirístico	14:0	13,93	15,21	0,504	NS
Ácido Miristoleico	14:1 cis9	0,70	0,70	0,056	NS
Ácido Pentadecanoico	15:0	1,17	1,47	0,095	NS
Ácido Palmítico	C16:0	33,81	38,05	0,651	**
Ácido Palmitoleico	16:1 cis9	0,74	0,66	0,049	NS
Ácido Heptadecanoico	17:0	0,80	0,81	0,050	NS
Ácido Heptadecenoico	17:1 cis10	0,13	0,12	0,014	NS
Ácido Esteárico	18:0	18,98	16,11	0,727	*
Ácido Oleico	18:1 cis9	13,75	11,27	0,611	*
Ácido Elaídico	18:1 trans9	0,07	0,03	0,017	**
Ácido Vaccénico	18:1 trans11	1,68	0,91	0,068	***
Ácido Linoleico	18:2 cis9 cis12	1,86	1,36	0,086	**
Ácido Ruménico (CLA)	18:2 cis9 trans11	0,74	0,31	0,044	***
Ácido Linolénico	18:3 cis6 cis9 cis12	0,86	0,35	0,039	***
Ácido Araquídico	20:0	0,17	0,07	0,040	NS
Ácido Eicosanoico	20:1 cis11	0,13	0,03	0,073	NS
Ácido Araquidónico	20:4 cis5 cis8 cis11 cis14	0,06	0,02	0,008	NS
AGS ³		82,18	86,08	1,164	NS
AGMI ⁴		14,36	11,75	1,144	NS
AGPI ⁵		3,48	2,03	0,119	***

¹ desviación estándar residual. ² significación estadística. NS: P>0,05; *: P<0,05; **: P<0.01; ***: P<0.001
³ Ácidos grasos saturados. ⁴ Ácidos grasos mono-insaturados. ⁵ Ácidos grasos poliinsaturados.

4.9. Efecto sobre el parto y la fertilidad en el siguiente ciclo reproductivo

En la Tabla 4.9 se muestran los parámetros reproductivos de los animales alimentados con dietas basadas en ensilado de haba y colza forrajera (HC) o en ensilado de raigrás (RI). El 60% de los partos del grupo HC fueron calificados como difíciles no distócicos, esto es, las vacas necesitaron ayuda para la extracción del ternero pero sin utilización de equipos obstétricos. Todas las vacas del grupo RI parieron sin necesidad de ayuda externa. Aunque no se observaron diferencias entre tratamientos, los terneros nacidos de madres en el grupo HC pesaron un 10% menos que los terneros nacidos de las madres del grupo RI. La supervivencia de los terneros fue del 100%.

Tabla 4.9: parámetros reproductivos de las vacas en los dos tratamientos

	HC	RI	r _{sd} ¹	P ²
Partos difíciles (%)	60	0	--	--
Hembras nacidas (%)	40	40	--	--
Peso al nacimiento (kg)	34,8	38,3	2,82	NS
Días al primer celo	76,4	54,6	9,37	NS
Nº IA hasta la preñez³	2,0	1,8	0,31	NS
Días hasta Inseminación efectiva	143,4	105,4	16,12	NS

¹ desviación estándar residual. ² significación estadística. NS: P>0,05. ³ IA: Inseminación artificial

Aunque el ensayo terminó a las cuatro semanas del parto, se realizó un seguimiento de la reactivación ovárica para un nuevo ciclo productivo. Las vacas que habían estado englobadas en grupo RI mostraron síntomas de celo a los 55 días tras el parto, mientras que en las del grupo HC aparecieron como media 22 días más tarde. Se necesitaron 2,0 y 1,8 inseminaciones en los grupos HC y RI respectivamente para que las vacas quedaran preñadas, siendo la inseminación fértil del grupo HC a los 143 días tras el parto y la del grupo RI a los 105 días.

DISCUSIÓN

5. DISCUSION

La producción de la asociación de haba y colza forrajera resultó muy superior a la obtenida por de la Roza *et al* (2004) para las habas forrajeras cuando estudiaron su evolución en asociación con triticale como cereal de invierno. El corte único de haba y colza presentó una producción de materia seca similar a la producción acumulada de los dos cortes de raigrás italiano, de forma concordante con los resultados de Martínez-Fernández *et al* (2005), cuando compararon habas forrajeras en monocultivo frente a raigrás italiano. La presencia de adventicias asociadas al maíz mostró diferencias significativas entre manejos, demostrando la poca efectividad del herbicida sintético frente al poder herbicida de la colza. El valor de pH del suelo (>6) y su contenido en MO (>2%), garantizan un correcta implantación y desarrollo de los cultivos en ambos manejos. El contenido en P asimilable indica niveles elevados de fertilidad del suelo, mientras que el incremento en la concentración en K en manejo sostenible a lo largo del período de estudio, es indicativo de que el suelo pasa de una clasificación de fertilidad baja a fertilidad alta según Martínez-Fernández y Argamenteoría (2012). La evolución del contenido en K refleja el efecto de la fertilización orgánica, rica en K, así como la extracción de K de las capas profundas, por parte de la colza.

Según NRC (2001), la concentración dietética necesaria en la ración de vacas multíparas en las 3 últimas semanas de gestación para cubrir sus requerimientos está alrededor de 12% de proteína bruta con un aumento de una o dos unidades en los 7 últimos días de gestación. Para novillas en su primera gestación se recomienda un 14% de proteína bruta en la ración, elevando el nivel proteico hasta el 17% en la última semana. Para subsanar cualquier eventual déficit proteico, tanto el pienso L (ofrecido en cantidad fija de 3kg de materia fresca por día durante todo el experimento) como la hierba pastada presentan un alto contenido de PB (19,71 y 19,66% respectivamente). Por lo tanto, las raciones formuladas en este ensayo cubrirían en principio dichas necesidades ya que todas las vacas utilizadas en el ensayo tenían al menos una lactación previa.

El aporte energético de las mezclas HC y RI fueron de 1,38 y 1,42 Mcal ENI/kg MS respectivamente, y parecen adecuadas para vacas en el final de gestación (recomendación de NRC, 2001: 1,25 Mcal ENI/kgMS).

En la segunda parte del periodo de transición y cuando las vacas entran en lactación, las necesidades nutricionales se incrementan y el organismo del animal recurre a la movilización de las reservas corporales. Los animales del ensayo en esta fase recibieron dos tipos de piensos suplementarios para cubrir la limitada densidad energética y proteica de las dos dietas TMR ensayadas, además, las vacas tuvieron un acceso al pasto.

En el presente ensayo, las dietas fueron únicas para cada grupo de manejo, sin variaciones sustanciales antes y después del parto, excepto la oferta de 1 kg/d de pienso S tras el parto. La oferta de los diferentes componentes de la dieta: ración TMR, concentrado L, concentrado S y hierba, por separado permiten a las vacas autoregular la ingesta, de modo que pueden cubrir sus necesidades en cada período de la transición. Efectivamente, considerando las ingestiones de materia seca de cada uno de los componentes de la dieta y su aporte proteico y energético vemos que la dieta completa alcanza en 16% de PB con los dos manejos antes y después del parto (16,4% y 16,0% PB para los manejos HC y RI, respectivamente, antes del parto y 15,6% y 16,3%PB para los manejos HC y RI, respectivamente, tras del parto). De modo similar, se observó una regulación de la ingestión de energía en ambos tratamientos y periodos: (1,46 y 1,47 Mcal ENI/kgMS para los manejos HC y RI, respectivamente, antes del parto y 1,51 y 1,49 Mcal ENI/kgMS para los manejos HC y RI, respectivamente, tras del parto). Además, la ingestión de materia seca asociada con la TMR esta relacionada negativamente con la ingestión de hierba en pastoreo. Es decir las vacas del grupo HC en preparto tuvieron una IMS de TMR numéricamente inferior a la del grupo RI y una IMS en pastoreo superior forma concordante con los resultados de Morales-Almaráz *et al* (2010).

Calculando la diferencia entre la ingestión de energía y las necesidades de la misma (calculadas según las ecuaciones de NRC, 2001) en Mcal de ENI por día, durante las semanas 1, 2, 3 y 4 de postparto, las vacas en el tratamiento HC presentaron un balance energético más negativo que las vacas en el tratamiento RI (-13; -6; -11 y -11 McalENI/d vs. -8; -3; -3,2 y -5 McalENI/d, respectivamente). Rastani *et al* (2005) reportaron en vacas alimentadas con dietas basadas en ensilado de maíz, un balance energético durante las tres primeras semanas de lactación inferior al observado en vacas HC y superior a lo observado en el tratamiento RI (-8, -12, -8,5 en las semanas 1, 2 y 3 postparto respectivamente). No obstante, la densidad energética de la dieta usada en su trabajo fue superior a las de las dietas de nuestro ensayo (1,7 Mcal/kg vs. 1.5 Mcal/kg en su ensayo y en el nuestro respectivamente). Por otro lado, el BEN tiene

una menor incidencia cuando la duración de secado es más corta (Grummer, 2011), así, en nuestro ensayo, las vacas habían sido secadas 60 días antes del parto previsto, mientras que las vacas en el trabajo de Rastani *et al* (2005) tuvieron un periodo de secado más corto (50 días).

La ingestión de materia seca de los animales en porcentaje del peso vivo fue similar en los dos grupos, siendo alrededor de 2,5% del PV en preparto y con una disminución al 1,8% en el periparto. Posteriormente, este porcentaje de consumo en relación al PV se recuperó en ambos tratamientos, estimándose una ingestión de materia seca a las cuatro semanas del parto del 2,4% del PV en el tratamiento HC, siendo algo superior en el tratamiento RI (3,3%). En la segunda semana postparto, la relación ingestión:PV dio valores anormalmente altos en el tratamiento RI. Ello ha sido achacado a un error en el registro del peso de los animales en esa semana, lo que conllevó, probablemente a una sobreestimación de la ingestión de hierba en pastoreo.

Los animales de ambos manejos, HC y RI, llegaron al parto con una condición corporal de 2,75 de media. Ésta puede considerarse algo baja comparada con las recomendaciones de manejo, que la sitúan en torno a 3,00-3,50. Tras el parto, las vacas de ambos grupos mostraron una condición corporal de 2,25, lo que es indicativo de una movilización de reservas corporales destinadas a la obtención de energía para la producción de leche y posible indicación de un balance negativo de energía. Efectivamente, las vacas alcanzaron tras el parto una alta producción de leche, por encima de 29 kg de leche al día y con una proporción de grasa elevada (3,91% en las vacas con el manejo HC y 4,36% en las vacas con el manejo RI, $P < 0,05$). La elevada producción de leche junto a un alto porcentaje de grasa en los primeros días tras el parto está correlacionada negativamente con el balance energético (Van Vries y Veerkamp, 2000). Ahora bien, la relación grasa/proteína es de 1,18 en el manejo HC y de 1,34 en el RI, dentro del rango de valores recomendados (1,1-1,5), lo que es indicador de que los animales no entraron en balance negativo de energía en este período. Por otra parte, la relación de grasa/proteína fuera de ese rango, es indicativa de una posible acidosis ruminal subaguda (SARA). Como los valores obtenidos en esta relación en nuestro ensayo están dentro de los parámetros normales, nos indica que los animales no entraron en el proceso patológico de SARA, aun considerando que el modo de ofertar los concentrados suplementarios L y S en dos tomas puede suponer un riesgo de acidosis momentáneo. Además, la estrategia de alimentación utilizada, consistente en alimentar las vacas durante toda la transición con la misma

ración reduce los cambios bruscos de alimentación que pueden agravar el estado de estrés de las vacas y minimizar el grado y la extensión del BEN (Grummer *et al*, 2004).

El perfil de ácidos grasos de cadena corta no se vio afectado por el tipo de tratamiento, sin embargo la concentración de AG de cadena media fue superior en el tratamiento RI que en el tratamiento HC (56,7 vs. 51,0 gAG/100gAG respectivamente) debido a la gran concentración del ácido palmítico (38,05 vs. 33,81 % respectivamente). Morales-Almaráz *et al* (2010) encontraron una concentración de palmítico parecida en vacas en pastoreo (12 horas) suplementadas con TMR en base a ensilado de maíz y ensilado de haba forrajera. En cuanto a los ácidos grasos de cadena larga (18 átomos de carbono y más), el grupo HC presentó concentraciones superiores respecto al grupo RI. Además, estas concentraciones fueron superiores a las reportadas Morales-Almaráz *et al* (2010) en vacas pastoreando 12 horas al día con suplemento de TMR en base a ensilado de maíz y haba forrajera. Ello, puede ser debido a que nuestro ensayo las vacas permanecían entre 12 y 16 horas en el pasto.

Las vacas alimentadas con una mezcla TMR basada en la asociación forrajera haboncillos-colza presentaron un mejor perfil de AG en la leche especialmente con una mayor concentración de AGPI (3,48gAGPI/100gAG), que las vacas alimentadas con TMR en base a RI (2,03gAGPI/100gAG) en el presente ensayo o en base a la mezcla ensilados de maíz y haba forrajera (3,09gAGPI/100gAG; Morales-Almaráz *et al*, 2010). No obstante el grado de saturación de la grasa de la leche en ambos grupos tratamientos (84,1 gAGS/100gAG), fue superior al reportado en la bibliografía (Dewhurst *et al*, 2006; Morales-Almaráz *et al*, 2011). Esta mayor saturación en los ácidos grasos es debido a que, mientras los ensayos habitualmente se llevan a cabo en primavera, se ha observado que en otoño e invierno la proporción de AGS en la leche es superior al observado en primavera-verano (Roca-Fernandez y Gonzalez-Rodriguez, 2013). Por lo tanto, la relación AGS:AGI de la leche supera en ambos tratamientos las actuales recomendaciones dietéticas (OMS, 1997). La relación entre los AG W6 y W3 fue superior en el tratamiento RI que en el HC (4,2 vs. 2,2 respectivamente, $P < 0,01$), debido a la mayor ingestión de hierba en el tratamiento RI en postparto. Estos resultados son concordantes con la bibliografía (Dewhurst *et al*, 2006; Morales-Almaráz *et al*, 2011). Ahora bien, la proporción de AGI considerados como saludables en la alimentación humana (ácidos vaccénico, linoleico, linolénico y CLA) son superiores en el tratamiento HC debido a la riqueza de estos AG en la semilla de colza, a pesar de tener una menor ingestión de hierba en este tratamiento (Côtés *et al*, 2010).

CONCLUSIONES

6. Conclusiones

A partir de los en el presente trabajo en el que se evaluó la posibilidad de la utilización de dietas *unifeed* elaboradas con ensilados de alto valor nutritivo, obtenidos con bajos *inputs* en fertilizantes, y con el mínimo aporte de concentrado posible, complementarias al pastoreo en la alimentación de vacas lecheras en período de transición se puede concluir que:

1. El cultivo asociado de haba y colza forrajeras puede ser una alternativa viable al raigrás italiano como forraje de invierno, dando mayor producción forrajera por hectárea y sin diferencias significativas relativas a los rendimientos en proteína y energía. No obstante, el forraje asociado de haboncillos y colza presenta un menor rendimiento en materia orgánica digestible.
2. El manejo sostenible permite reducir los *inputs* en fertilización de síntesis y herbicidas, lo que puede abaratar los costes de producción. A la vez, el manejo sostenible mejora el equilibrio del suelo a través de un aumento en los contenidos de potasio.
3. El ensilado de la asociación forrajera haba-colza presenta un buen valor nutritivo y puede ser una alternativa al ensilado de raigrás italiano en la alimentación de vacas de leche en condiciones de pastoreo, permitiendo reducir el aporte de concentrado en la TMR.
4. Las vacas en periodo de transición presentan un consumo de la mezcla *unifeed* en base al ensilado de la asociación forrajera HC menor que la mezcla *unifeed* en base a ensilado de RI. Ahora bien, durante el parto compensaron el menor consumo de la misma con el mayor consumo de la hierba en pastoreo. Sin embargo, no se observó esta compensación en el postparto, lo que condujo a una menor ingestión de materia seca total por día tras el parto.
5. La producción de leche no se ve afectada por el menor consumo de MS en el tratamiento HC en las primeras cuatro semanas postparto. La grasa de la leche producida por vacas alimentadas con el ensilado de haba-colza fue inferior a la de las vacas alimentadas con el ensilado de raigrás italiano, pero contiene una mayor proporción de ácidos grasos insaturados (vaccénico, linoleico, CLA y linolénico) a pesar de tener un menor consumo de hierba en pastoreo.

Síntesis final

La sustitución del raigrás italiano por el cultivo asociado de haba y colza forrajeras proporciona la ventaja agronómica de una mayor producción por hectárea, a la vez que permite reducir el uso de fertilizantes químicos y herbicidas. El uso de esta asociación forrajera ensilada en la alimentación de vacas en preparto permite reducir el aporte de concentrado en la ración e incrementa el consumo de hierba de pastoreo, lo que permitiría reducir los costes de alimentación en el preparto. Utilizando la misma ración tras el parto, se observa que no afecta a la producción de leche y mejora notablemente el perfil lipídico de la grasa de la misma. No obstante, se observa una limitación en la ingestión de materia seca tras el parto que podría afectar a la producción de leche a medio y largo plazo y a la reactivación de la reproducción, por lo que debería estudiarse la posibilidad de su aporte conjunto con otros forrajes y/o su ensilado con aditivos que permitieran incrementar su digestibilidad e ingestión voluntaria tras el parto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAS. 1985. Compound feed evaluation for the ruminants. Technical Bulletin 85/21. Ministry of Agricultural, Fisheries and Food. Reading, UK. pp 2.
- AFRC. 1993. Energy and protein requirements of ruminants. Agricultural and Food Research Council. CAB International, Wallingford, UK.
- Allen, M. S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83:1598–1624.
- Allen, M. S., Bradford, B. J. Oba, M. 2009. The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *J. Anim. Sci.* 87: 3317-3334.
- Álvarez, A., del Corral, J, Solís, D. y Pérez, J.A. 2008. Does Intensification Help to Improve the Economic Efficiency of Dairy Farms? *J. Dairy Sci.*, 91: 1-6.
- Andersen, J. B., Madsen, T. G., Larsen, T., Ingvarsen, K. L., Nielsen, M. O. 2005. The Effects of Dry Period Versus Continuous Lactation on Metabolic Status and Performance in Periparturient Cows. *J. Dairy Sci.* 88: 3530–3541.
- Anil, L., Park, R., Phipps, R. H., Miller, F.A. 1998. Temperate intercropping of cereals for forage: a review of the potential for growth and utilization with particular reference to the UK. *Grass Forage Sci.* 53: 301-317.
- Annen, E. L., Collier, R. J., McGuire, M. A., Vicini, J. L. 2004. Effects of Dry Period Length on Milk Yield and Mammary Epithelial Cells. *J. Dairy Sci.* 87:(E Suppl.): E66–E76.
- Armstrong, D. G., Gong, J. G. Webb, R. 2003. Interactions between nutrition and ovarian activity in cattle: Physiological, cellular and molecular mechanisms. *Reprod. Suppl.* 61:403–414.
- Bach, A., Iglesias, C., Busto, I. 2004. Technical note: A computerized system for monitoring feeding behavior and individual feed intake of Dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 87: 4207-4209.
- Bachman, K. C. y Schairer, M. L. 2003. Invited Review: Bovine Studies on Optimal Lengths of Dry Periods. *J Dairy Sci.* 86: 3027–3037.
- Banninka, A., Gerritsb, W. J., Francec, J., Dijkstrab. J. 2012. Variation in rumen fermentation and the rumen wall during the transition period in dairy cows. *Anim Feed Sci Tech.* 172: 80– 94.
- Beever, D. E. 2006. The impact of controlled nutrition during the dry period on dairy cow health, fertility and performance. *Anim. Reprod. Sci.* 96(3-4):212-226.
- Bell, A. W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J Anim Sci.* 73: 2804-2819.
- Bell, A. W., Burhans, W. S., Overton, T. R. 2000. Protein nutrition in late pregnancy, maternal protein reserves and lactation performance in dairy cows. *Proc Nutr Soc.* 59:119-26.
- Bell, A. W., Slepatis, R., Ehrhardt, R. A. 1995. Growth and Accretion of Energy and Protein in the Gravid Uterus During Late Pregnancy in Holstein Cows. *J Dairy Sci* 78: 1954-1961.

- Bertics, S. J., Grummer, R. R., Cadorniga-Valino, C. 1992. Effect of Prepartum Dry Matter Intake on Liver Triglyceride Concentration and Early Lactation. *J Dairy Sci.* 75:1914-1922.
- Bradford, B. J., y Allen, M. S. 2008a. Optimizing Transition Cow Diets. En: *Tri-State Dairy Nutrition Conference*. 22 y 23 abril 2008. P 37-45.
- Bradford, B. J., y Allen, M. S. 2008b. Negative energy balance increases periprandial ghrelin and growth hormone concentrations in lactating dairy cows. *Dom Anim Endocrinol.* 34: 196-203.
- Butler W. R. 2005. Relationships of negative energy balance with fertility. *Adv Dairy Tech.*17, 35-47.
- Butler, S. T., Pelton, S. H., Butler, R. 2006. Energy Balance, Metabolic Status, and the First Postpartum Ovarian Follicle Wave in Cows Administered Propylene Glycol. *J. Dairy Sci.* 89:2938–2951.
- Butler, W. R. 2001. Nutritional effects on resumption of ovarian cyclicity and conception rate in postpartum dairy cows. *Anim. Sci. Occas. Publ.* 26 (1): 133-145.
- Butler, W. R. 2003. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 83: 211–218.
- Butler, W. R. y R. D. Smith. 1989. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72:767–783.
- Canfield, R. W. y Butler, W. R. 1991. Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows. *J Anim. Sci.* 69: 740–746.
- Castañeda-Gutierrez, E., Overton, T.R., Butler, W.R., Bauman, D.E. 2005. Dietary supplements of two doses of calcium salts of conjugated linoleic acid during the transition period and early lactation. *J. Dairy Sci.* 88, 1078–1089.
- Christie, W. W. 1982. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. *J. Lipid Res.* 23: 1072-1075.
- Church, G. T., Fox, L. K., Gaskins, C. T., Hancock, D. D., Gay, G. M. 2008. The Effect of a Shortened Dry Period on Intramammary Infections During the Subsequent Lactation. *J. Dairy Sci.* 91: 4219–4225.
- Côrtes, C., da Silva-Kazama, D.C., Kazama, R., Gagnon, N., Benchaar, C., Santos, G.T.D., Zeoula, L.M., Petit, H.V. 2010. Milk composition, milk fatty acid profile, digestion, and ruminal fermentation in dairy cows fed whole flaxseed and calcium salts of flaxseed oil. *J. Dairy Sci.* 93 (7): 3146-3157.
- Darwach, A. O., Lamming, G. E., Woolliams, J. A. 1999. The potential for identifying heritable endocrine parameters associated with fertility in postpartum dairy cows. *Anim. Sci.* 68: 333-347.
- Darwash, A. O., Lamming, G. E., Woolliams, J. A. 1997. The phenotypic association between the interval to post-partum ovulation and traditional measures of fertility in dairy cattle. *J Anim Sci.* 65: 9–16.

- de La Roza, B., Matrínez-Fernández, A., Soldado, A., Argamentería, A. 2004. Evolución de la producción y ensiliablez de la asociación triticale-haboncillos, según el estado de desarrollo. En: García Criado B. et al (eds) *Pastos y Ganaderías Extensiva*. 273-278. Salamanca, España: *Sociedad Española Para El Estudio De Los Pastos*.
- De Vries, M.J. y Veerkamp, R.F. 2000. Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility. *J. Dairy Sci.* 83 (1): 62-69.
- DeGaris, P. J. y Lean, I. J. 2008. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *Vet. J.* 176:58-69.
- Dewhurst, R.J., Shingfield, K.J., Lee, M.R.F., Scollan, N.D. 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Anim. Fd. Sci. Tech.* 13: 168-206
- Dias, F. M. y Allaire F. R. 1982. Dry Period to Maximize Milk Production Over Two Consecutive Lactations. *J Dairy Sci.* 65:136-145.
- Dix Arnold, P. T., Becker, R. B. 1936. Influence of Preceding Dry Period and of Mineral Supplement on Lactation. *J Dairy Sci.* 19 (4): 257-266.
- Doltra, J., Olesen, J. E. 2013. The role of catch crops in the ecological intensification of spring cereals in organic farming under Nordic climate. *Eur J Agron.* 44: 98-108.
- Douglas, G. N., Overton, T. R., Bateman, H. G., Dann, H. M., Drackley, J. K. 2006. Prepartal plane of nutrition, regardless of dietary energy source, affects periparturient metabolism and dry matter intake in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 89:2141-2157.
- Drackley, J. K. 2005. Physiological Adaptations in Transition Dairy Cows. Monografía: Department of Animal Sciences University of Illinois, Urbana. http://www.cvm.umn.edu/dairy/prod/groups/cvm/@pub/@cvm/documents/asset/cvm_33551.pdf [Consultado el 26 de mayo de 2013]
- Drackley, J. K. y Janovick-Guretzky, N. A. 2007. Controlled energy diets for dry cows. En: 8º *Western Dairy Management Conference*. 7-9 de marzo Reno, NV. Oregon State Univ., Corvallis. 7-16.
- Drackley, J. K., Overton, T. R., Douglas, G. N. 2001. Adaptations of Glucose and Long-Chain Fatty Acid Metabolism in Liver of Dairy Cows during the Periparturient Period. *J Dairy Sci.* 84 (Suppl) E100-E112.
- Dyk, P. B., Emery, R. S., Liesman, J. L., Bucholtz, H. F., VandeHaar, M. J. 1995. Prepartum non-esterified fatty acids in plasma are higher in cows developing periparturient health problems. *J. Dairy Sci.* 78(Suppl. 1):264.
- Edmonson, A.J., Lean, I.J., Weaver, L.D., Farver, T., Webster, G., 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 72: 68-78.
- Feng, S., Lock, A. L., Garnsworthy, P. C. 2004. Technical note: A rapid lipid separation method for determining fatty acid composition of milk. *J. Dairy Sci.* 87: 3785-3788.

- French, P. D. 2006. Dry matter intake and blood parameters of nonlactating Holstein and Jersey cows in late gestation. *J. Dairy Sci.* 89: 1057-1061.
- Friggens, N., Andersen, J. B., Larsen, T., Dewhurst, R. J. 2004. Priming the dairy cow for lactation: a review of dry cow feeding strategies. *Anim. Res.* 53: 453-473.
- Garnsworthy, P. C. y Topps, J. H. 1982. The effects of body condition of dairy cows at calving on their food intake and performance when given complete diets. *Anim. Prod.* 35:113-119
- Glister, C. y Knight, P. G. 2001. Potential local regulatory functions of inhibins, activins and follistatins in the ovary. *Reproduction* 121:503-512.
- Glister, C., Tannetta, D. S. Groome N. P., Knight, P. G. 2001. Interactions between follicle-stimulating hormone and growth factors in modulating secretion of steroids and inhibin-related peptides by nonluteinized bovine granulosa cells. *Biol. Reprod.* 65:1020-1028.
- Goff, J. P. 2006. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. *Anim. Feed Sci. Tech.* 126:237-257.
- Goff, J. P. y Horst R. L. 1997. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J Dairy Sci.* 80(7):1260-1268.
- González-Rodríguez A., Roca-Fernández A.I, Vázquez-Yáñez O.P., Fernández-Casado J.A. 2010. Increasing the milk quality with grazing feeding in humid Spain grassland. *Grassland Science in Europe* 15: 690-692.
- Grieve, D.A., Kover, S., Rijpkema, Y.S., Hof, G. 1986. Relationship between milk composition and some nutritional parameters in early lactation. *Livest. Prod. Sci.* 14: 239-254.
- Gross, J., van Dorland, H.A., Schwarz, F.J., Bruckmaier, R.M. 2011. Endocrine changes and liver mRNA abundance of somatotropic axis and insulin system constituents during negative energy balance at different stages of lactation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94: 3484-3494.
- Grummer, R. R. 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76: 3882-3896.
- Grummer, R. R. 1995. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J Anim Sci.* 73: 2820-2833.
- Grummer, R. R. 2008. Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. *The Vet J.* 176 (1): 10-20.
- Grummer, R. R. 2011. Nutritional Implications of Altering the Dry Period Length. 22nd Annual Ruminant Nutrition Symposium. University of Florida: <http://dairy.ifas.ufl.edu/rns/2011/4grummer.pdf> [Consultado el 26 de mayo de 2013]
- Grummer, R. R., Mashek, D. G., Hayirli, A. 2004. Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet Clin Food Anim.* 20: 447-470.

- Grundy, A. C., Mead, A., Burnston, S. 1999. Modelling the effect of cultivation on seed movement with application to the prediction of weed seeding emergence. *J Appl Ecol.* 36: 663-678.
- Gulay, M. S., Hayen, M. J., Bachman, K. C., Beloso, T. 2003. Milk Production and Feed Intake of Holstein Cows Given Short (30-d) or Normal (60-d) Dry Periods. *J. Dairy Sci.* 86: 2030–2038.
- Hayirli, A., Grummer, R. R., Nordheim, E. V., Crump, P. M. 2002. Animal and Dietary Factors Affecting Feed Intake During the Prefresh Transition Period in Holsteins. *J Dairy Sci.* 85 (12): 3430-3443.
- Herd, H. 2000. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 16(2): 215-230.
- Hoffman, W. 1937. A rapid photoelectric method for the determination of glucose in blood and urine. *J. Biol. Chem.* 120: 51-55.
- Holcomb, C. S., Van Horn, H. H., Head, H. H., Hall, M. B., Wilcox, C. J. 2001. Effects of prepartum dry matter intake and forage percentage on postpartum performance of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:2051-2058.
- Holter, J. B., Slotnick, M. J., Hayes, H. H., Bozak, C. K., Urban, W. E., and McGillard, M. L. 1990. Effects of prepartum dietary energy on condition score, postpartum energy intake, nitrogen partitions, and lactation production responses. *J. Dairy Sci.* 73:3502–3511.
- House, W. A. y Bell, A. W. 1993. Mineral accretion in the fetus and adnexa during late gestation in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 76:2999-3010.
- Ingvartsen, K. L. 2006. Feeding- and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. *J Ani Feed Sci.* 126 (3): 175–213.
- Ingvartsen, K. L. y Moyes, K. 2013. Nutrition, immune function and health of dairy cattle. *Animal.* 7: 112-122.
- Ingvartsen, K. L., Andersen, J. B. 2000. Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. *J. Dairy Sci.* 83, 1573–1597.
- Ingvartsen, K. L., Dewhurst, R. J., Friggens, N. C. 2003. On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? A position paper. *Livest. Prod. Sci.* 83 (2): 277-308.
- Jackson, L.E., Wyland, L. J., Stivers, L. J. 1993. Winter cover crops to minimize nitrate losses in intensive lettuce production. *J Agr Sci.* 121: 5562.
- Janovick, N.A., Boisclair, Y. R., Drackley, J. K. 2011. Prepartum dietary energy intake affects metabolism and health during the periparturient period in primiparous and multiparous Holstein cows. *J Dairy Sci.* 94:1385-400.
- Jolliffe, P. A. 1997 Are mixed populations of plant species more productive than pure stands? *Oikos*, 80, 595-602.

- Kawashima, C., Amaya Montoya, C., Masuda, Y., Kaneko, E., Matsui, M., Shimizu, T., Matsunaga, N., Kida, K., Miyake, Y., Suzuki, M., Miyamoto, A. 2007b. Short Communication: A Positive Relationship Between the First Ovulation Postpartum and the Increasing Ratio of Milk Yield in the First Part of Lactation in Dairy Cows. *J Dairy Sci.* 90: 2279-2282.
- Kawashima, C., Fukihara, S., Maeda, M., Kaneko, E., Montoya, C., Matsui, M., Shimizu, T. 2007a. Relationship between metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-partum in high-producing dairy cows. *Reproduction.* 133: 155–163.
- Kleppe. 8. B. R. J. Aiello, R. R. Grummer and L. E. Armentano. 1988. Triglyceride accumulation and very low density lipoprotein secretion by rat and goat hepatocytes in vitro *J. Dairy Sci.* 71:1813-1822.
- Klusmeyer, T. H., Fitzgerald, A. C., Fabellar, A. C., Ballam, J. M., Cady, R. A., Vicini, J. L. 2009. Effect of recombinant bovine somatotropin and a shortened or no dry period on the performance of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92: 5503–5511.
- Kuhn, M. T., Hutchison, J. L., Norman, H. D. 2005. Minimum days dry to maximize milk yield in subsequent lactation. *Anim. Res.* 54: 351–367.
- Kuhn, M. T., Hutchison, J. L., Norman, H. D. 2006. Dry Period Length to Maximize Production Across Adjacent Lactations and Lifetime Production. *J. Dairy Sci.* 89: 1713–1722.
- Liebman, M. Y. y Davis, A. S. 2000. Integration of soil crop and weed management in low-external input farming systems. *Weed Res.* 40(1): 27-47.
- Liesegang, A., Elcher R., Sassi M.-L., Risteli J., Kraenzlin M., Riond J. L., Wanner M. 2000. Biochemical markers of bone formation and resorption around parturition and during lactation in dairy cows with high and low standard milk yields. *J. Dairy Sci.* 83:1773–1781.
- Lormore, M. J. y Galligan, D. T. 2001. Economics of Atypical Lactation. *J Dairy Sci.* 84 (E. Suppl.) E212-E215.
- Lucy, M. C. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end? *J. Dairy Sci.* 84:1277–1293.
- Lucy, M. C. 2003. Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. *Reproduction.* 61 (Suppl):415–427.
- Macon, B., Sollenberger, L. E., Moore, J. E., Staples, C. R., Fike, J. H., Portier, K. M. 2003. Comparison of three techniques for estimating the forage intake of lactating dairy cows on pasture. *J Anim Sci.* 81: 2357-2366.
- MAFF. 1984. Energy allowances and feeding systems for ruminants. London, UK. Reference Book 433. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food.
- Makuza, S. M. y McDanlel, B. T. 1996. Effects of Days Dry, Previous Days Open, and Current Days Open on Milk Yields of Cows in Zimbabwe and North Carolina. *J Dairy Sci.* 79:702-70.

- Mantovani, R., Marinelli, L., Bailoni, L., Gabai, G., Bittant, G. 2010. Omission of dry period and effects on the subsequent lactation curve and on milk quality around calving in Italian Holstein cows. *Ital J Anim Sci*.9: 101-108.
- Martínez -Fernández, A., de la Roza Delgado, B., Modroño Lanzo, S., Argamentería, A. 2008. Producción y contenido en principios nutritivos de prados, praderas y de la rotación raigrás- maíz en la raza marítima centro-oriental de Asturias. *Pastos*, XXXVIII: 187-224.
- Martínez -Fernández, A., Soldado, A., Vicente, F., Marínez, A., De La Roza, B. 2010. Wilting and inoculation of *Lactobacillus buchneri* on intercropped triticale fava silage. Effects on nutritive, fermentative and aerobic stability characteristics. *Agr Food Sci*.19: 302-312.
- Martínez, A., Argamentería, A., de la Roza-Delgado, B., Martínez-Fernández, A. 2002. Mezclas cereales-leguminosa como forraje invernal en zonas húmedas. En: *Producción de pastos, forrajes y céspedes*. Chocarro, C., Santiveri, F., Fanlo, R., Bovet, I., Lloveras, J. (Ed) XLII Reunión Científica de la Sociedad Española para los Estudios de los Pastos, Lleida. pp: 315-320.
- Martínez-Fernández A., De La Roza Delgado B., Soldado Cabezuelo A. Y Argamentería A. (2005). Evaluación de producción y valor nutritivo de las habas forrajeras como alternativas al raigrás italiano utilizadas como cultivo de invierno en rotación con el maíz. En: De la Roza Delgado et al.(eds) *Producciones agroganaderas: Gestión eficiente y conservación del medio natural*, pp 681-688. Gijón, España: Sociedad Española para el Estudio de los Pastos.
- Martínez-Fernández, A. y Argamentería, A 2012. Recomendaciones para la fertilización de praderas y cultivos forrajeros anuales en zonas templado-húmedas. *Afriga*, 102, 100-110.
- Martínez-Fernández, A., Soldado, A., De La Roza, B., Vicente, F., Gonzalez-Arrojo M. A., Argamentería, A. 2013. Modelling a quantitative ensilability index adapted to forages from wet temperate areas. *Span J Agric Res*. 11: 455-462.
- Martínez-Fernández, A. 1995. Determinaciones analíticas para el conocimiento del valor nutritivo de un alimento. Importancia de la preparación de la muestra para su análisis. *Nuevas tendencias. Pastos y productos ganaderos*. EA China, A. Barquin (Ed). Tenerife, Editorial Piensos Biona.
- Morales-Almaráz, E., de la Roza-Delgado, B., González, A., Soldado, A., Rodríguez, M. L., Peláez, M., Vicente, F. 2011. effect of feeding system on unsaturated fatty acid level in milk of Dairy cows. *Renew Agr Food Syst*. 26 (3): 224-229.
- Morales-Almaráz, Soldado, A., González, A., Martínez-Fernández, A., Domínguez-Vara, I., E., 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. *J. Dairy Res*. 77: 225-230.
- Moreira, V.R., Zeringue L.K., Williams C.C., Leonardi C., McCormick M.E. 2009. Influence of calcium and phosphorus feeding on markers of bone metabolism in transition cows. *J. Dairy Sci*. 92 (10): 5189–5198.

- NRC. 2001. National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle. En *Seventh Revised Edition*.
- OMS. 1997. Grasas y aceites en nutrición humana. Consulta FAO/OMS de expertos. (Estudio FAO Alimentación y nutrición – 57). Organización Mundial de la Salud. Roma.
- Ospina, P. A., Nydam, D. V., Stokol, T., Overton, T. R. 2010. Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *J Dairy Sci.* 93 (2): 546-554.
- Overton, T. R., Drackley, J. K., Ottemann-Abbamonte, C. J., Beaulieu, A. D., Emmert L. S., Clark, J. H. 1999. Substrate utilization for hepatic gluconeogenesis is altered by increased glucose demand in ruminants. *J. Anim. Sci.* 77:1940-1951.
- Overton, T. R., Drackley, J. K., Douglas, G. N., Emmert, L. S., Clark, J. H. 1998. Hepatic gluconeogenesis and whole-body protein metabolism of periparturient dairy cows as affected by source of energy and intake of the prepartum diet. *J. Dairy Sci.* 81(Suppl 1):295.
- Park, A. F., Shirley, J. E., Titgemeyer, E. C., Ferdinand, E. E., Cochran, R. C., Schmidt, D. G. Ives, S. E., Nagaraja, T. G. 2001. Changes in rumen capacity during the periparturient period in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84 (Suppl.1):82.
- Park, A. F., Shirley, J. E., Titgemeyer, E. C., Ferdinand, E. E., Cochran, R. C., Wickersham, E. E., Nagaraja, T. G. 2011. Characterization of ruminal dynamics in Holstein dairy cows during the periparturient period. *J. Anim. Physiol. Anim Nut (Berl)*. 95 (5): 571-582.
- Pezeshki, A., Mehrzad, J., Ghorbani, G. R., Rahmani, H. R., Collier, R. J., Burvenich, C. 2007. Effects of Short Dry Periods on Performance and Metabolic Status in Holstein Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 90: 5531–5541.
- Playne, M. y McDonald, P. 1966. The buffering constituents of herbage and of silage. *J. Sci. Fd. Agric.* 17: 264-268.
- Rastani, R. R. y Grummer R. R. 2003. When should lactating dairy cows reach positive energy balance? *The professional Animal Scientist.* 19: 197-203.
- Rastani, R. R., Grummer, R. R. Bertics, S. J. Gumen, A. Wiltbank, M. C. Mashek, D. G. and M. C. Schwab. (2005) Reducing dry period length to simplify feeding of transition cows: Milk production, energy balance, and metabolic profiles. *J. Dairy Sci.* 88:1004-1014.
- Reddy, G., Altaf, M., Naveena, B. J., Venkateshwar, M., Vijay Kumar E. 2008. *Biotechno Adv.* 26 (1): 22-34.
- Reid, I.M. 1980. Incidence and severity of fatty liver in dairy cows, *Vet. Rec.* 107: 281-284.
- Rémond, B., Rouel, J., Pinson, N., Jabet, S. 1997. An attempt to omit the dry period over three consecutive lactations in dairy cows. *Ann Zootech.* 46: 399-408.

- Rémond, B., y Bonnefoy, J. C. 1997. Performance of a herd of Holstein cows managed without the dry period. *Ann Zootech.* 46: 3-12.
- Resch, C., Bande-Castro, M. J., Pereira-Crespo, S., Fernandez-Lorenzo, B., Flores, G. 2013. Evaluación de variedades comerciales de sorgo forrajero en siembras tardías en la Galicia Atlántica: rendimiento en materia seca. En: Los pastos, nuevos retos, nuevas oportunidades; Olea, L., Poblaciones, M. J., Rodrigo, S. M., Santamaría, O (ed). La 52^o reunión científica de la Sociedad Española de los Estudios para Pastos. pp: 147-154.
- Reynolds, C. K., Aikman, P. C., Humphries, D. J., Beever, D. E. 2003. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *J. Dairy Sci.* 86(4): 1201-1217.
- Riveros, E. y Argamentería, A. 1987. métodos enzimáticos de la predicción de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica de forrajes. I. Forrajes verdes. II. Henos. II. Ensilados y pajas. *Avances en Producción Animal.* 12: 49-75.
- Roca-Fernández, A. I., González-Rodríguez, A., Vazquez-Yanez, O. P. 2012. Effect of pasture allowance and cows' lactation stage on perennial ryegrass sward quality, pasture dry matter intake and milk performance of Holstein-Friesian cows. *Span J Agric Res* 10: 393-408.
- Roca-Fernández, A. I., y González-Rodríguez, A. 2013. Variación estacional en la composición química y en el perfil de ácidos grasos de la leche de vaca. En: la 52^o reunión de la Sociedades Española de los Estudios De Pastos, 8-12 de abril (2013), p 353-360.
- Rochinotti, D. 1998. Model components of forage-fed cattle systems: Energy expenditure of grazing cattle and prediction of intake in dairy cows. Ph.D. Diss., University of Florida, Gainesville.
- Sakaguchi, M., Sasamoto, Y., Suzuki, T., Takahashi, Y., Yamada, Y. 2004. Postpartum ovarian follicular dynamics and estrous activity in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:2114–2121.
- Santschi, D. E., Lefebvre, D. M., Cue, R. I., Girard, C. L., Pellerin, D. 2011. Complete-lactation milk and component yields following a short (35-d) or a conventional (60-d) dry period management strategy in commercial Holstein herds. *J. Dairy Sci.* 94:2302–2311.
- SAS. 1999. SAS (1999) SAS (Statistical Analysis System) Institute, SAS/STATTM. *User's guide*. North Caroline, USA: SAS Institute, Inc. 10.
- Sawa, A., Bogucki, M., Neja, W. 2012. Dry period length and performance of cows in the subsequent production cycle. *Archiv Tierzucht.* 55 (2): 140-147.
- Schaeffer, L. R. y Henderson, C. R. 1972. Effects of Days Dry and Days Open on Holstein Milk Production. *J Dairy Sci.* 55 (1): 107-112.
- Schwartzkopf-Genswein K. S., Beauchemin, K. A., Gibb, D. J., Crews, D. H., Hickman, D. D., Streeter, M., McAllister, T. A. 2003. Effect of bunk management on feeding behavior, ruminal acidosis and performance of feedlot cattle: *J. Anim. Sci.* 81:E149–E158.

- Seal, C. J. y Reynolds, C. K. 1993. Nutritional implications of gastrointestinal and liver metabolism in ruminants. *Nutr. Res. Rev.* 6:185-208.
- Sørensen, J. T. y Enevoldsen, C. 1991. Effect of Dry Period Length on Milk Production in Subsequent Lactation. *J Dairy Sci.* 74:1277-1283.
- Stanley, T.A., Cockharan, R. C., Vanzant, E. S., Harman, D. L., Corah, L. R. 1993. Periparturient changes in intake, ruminal capacity and digestive characteristics in beef cows consuming alfalfa hay, *J. Anim. Sci.* 71: 788.
- Steeneveld, W., Schukken, Y. H., van Knegsel, A. T., Hogeveen, H. 2013. Effect of different dry period lengths on milk production and somatic cell count in subsequent lactations in commercial Dutch dairy herds. *J. Dairy Sci.* 96: 2988–3001.
- Stefani, P., Manca, G., Sutton, M., Tuba, Z., Valentini, R. 2007. Full accounting of the greenhouse gas (CO₂, H₂O, CH₄) budget of nine European grassland sites. *Agric. Ecosyst. Environ.* 121: 121-134.
- Stevenson, J.S. 2001. Reproductive management of cows in high-producing herds. *Adv Dairy Tech.* 13:51-60.
- Van Knegsel, A.T.M., Van den Brand, H., Dijkstra, J., Van Straalen, W.M., Heetkamp, M.J.W., Tamminga, S., Kemp, B. 2007a. Dietary energy source in dairy cows in early lactation: energy partitioning and milk composition. *J. Dairy Sci.* 90, 1467–1476.
- Van Knegsel, A.T.M., Van den Brand, H., Dijkstra, J., Van Straalen, W.M., Jorritsma, R., Tamminga, S., Kemp, B. 2007b. Effect of glucogenic vs. lipogenic diets on energy balance, blood metabolites, and reproduction in primiparous and multiparous dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 90, 3397–3409.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. 1991. Methods of dietary, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
- Vance, C. P., Uhde-Stone, C., Allan, D. L. 2003. Phosphorus acquisition and use. Critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist.* 157 (3): 423-447.
- VandeHaar, M. J., Donkin, S. S. 1999. Protein nutrition of dry cows. In: Eastridge ML, editor. Proc Tri-State Dairy Nutr Conf, April 20, Ft. Wayne, En. Columbus (OH): The Ohio State University, 112-130.
- Vicente, F., de la Roza, B., Argamentería, A., Rodríguez, M. L. 2005. Feeding with bad preserved silages and occurrence of subclinical ketosis in Dairy cows. En: Silage Production and utilisation. Park, R.S., Stronge, M. D. (Ed). Wageningen Academic Publishers. Paises Bajos. pp 146.
- Vickers, L. A., Weary, D. M., Veira, D. M., Von Keyserlingk, M. A. 2013. Feeding a higher forage diet prepartum decreases incidences of subclinical ketosis in transition dairy cows. *J. Anim. Sci.* 91(2):886-894.
- Weissbach, F. y Honig, H. 1996. Über die Vorhersage und steuerung des arungsverlaufs bei der silierung vo grunfutteraus extensivem anbau. *Landbauforsch Volk.* 1: 10-17.

- Whitaker, D. A., Smith, E. J., Rosa, G.O.D., Kelly, J. M., 1993. Some effects of nutrition and management on the fertility of dairy cattle. *Vet. Rec.* 133, 61-64.
- Zitnan, R., Voigt J., Wegner J., Breves G., Schroder B., Winckler C., Levkut M., Kokardova M., Schonhusen U., Kuhla S., Hagemeister H., Sommer A. (1999): Morphological and functional development of the rumen in the calf: Influence of the time of weaning. Morphological development of rumen mucosa. *Arch Anim Nutr*, 52, 351–362.