

**EFFECTO DE DISTINTAS ESTRATEGIAS DE ALIMENTACIÓN SOBRE LA RESPUESTA
PRODUCTIVA DE VACAS LECHERAS Y LA CALIDAD DE LA LECHE**

ELOY EDUARDO SALADO

Trabajo de tesis para ser presentado como requisito parcial para optar al Título de

DOCTOR en CIENCIAS AGRARIAS

Área de Producción Animal

PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS AGRARIAS

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA**

Balcarce, Argentina

Junio de 2020

**EFFECTO DE DISTINTAS ESTRATEGIAS DE ALIMENTACIÓN SOBRE LA RESPUESTA
PRODUCTIVA DE VACAS LECHERAS Y LA CALIDAD DE LA LECHE**

ELOY EDUARDO SALADO

.....
Ing. Agr. **Gerardo Gagliostro**, M. Sc., Doctor en Fisiología Animal
Director de Tesis

.....
Lic. Cs. Biológicas **Adriana M. Descalzo**, Doctora Cs. Biológicas
Co-Directora de Tesis

**EFFECTO DE DISTINTAS ESTRATEGIAS DE ALIMENTACIÓN SOBRE LA RESPUESTA
PRODUCTIVA DE VACAS LECHERAS Y LA CALIDAD DE LA LECHE**

ELOY EDUARDO SALADO

Aprobada por:

.....

Ing. Agr. **Pablo Chilibroste Symonds**, *M.Sc., Ph.D.*

Evaluador externo

.....

BSc. **Juan Evangelista Carulla Fornaguera**, *M.Sc., Ph.D.*

Evaluador externo

.....

Ing. Agr. **Nicolás DiLorenzo**, *M.S., Ph.D.*

Evaluador externo

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a las siguientes personas e Instituciones:

Dr. Gerardo A. Gagliostro, por su permanente ayuda y guía durante la realización de mi Tesis, por sus valiosas sugerencias en la preparación de los seminarios y por la esmerada corrección del documento final.

Dra. Adriana Descalzo, por su colaboración y valiosos aportes toda vez que solicité su ayuda y por la contribución hecha a la lectura del trabajo final.

Ing. Agr. Alejandra Cuatrin por su valiosa colaboración en el análisis estadístico de los datos y por su excelente disposición para atender mis consultas.

Méd. Vet. (Ph.D.) Gustavo Bretschneider por su preciada participación en los experimentos.

Sr. Darío Arias por su invaluable colaboración con el trabajo de campo.

Profesionales y técnicos que cumplen sus funciones en los Laboratorios de Forrajes y Calidad de leche de la EEA Rafaela del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).

INTA por proporcionar el apoyo financiero para la realización de mi carrera de doctorado, así como para la realización de los experimentos involucrados.

INDICE GENERAL

| | |
|---|--------------------|
| INDICE | <i>iv</i> |
| INDICE DE CUADROS | <i>x</i> |
| INDICE DE FIGURAS | <i>xiii</i> |
| RESUMEN GENERAL | <i>xv</i> |
| ABSTRACT | <i>xvi</i> |
| 1. INTRODUCCIÓN GENERAL | <i>1</i> |
| 1.1. Estrategia experimental | <i>4</i> |
| 1.2. Hipótesis generales | <i>6</i> |
| 1.3. Objetivos generales | <i>6</i> |
| 1.4. Bibliografía | <i>7</i> |
| 2. ENSAYOS 1 Y 2 | <i>11</i> |
| Resumen | <i>11</i> |
| Abstract | <i>13</i> |
| 2.1. INTRODUCCIÓN | <i>16</i> |
| 2.1.1. Hipótesis | <i>17</i> |
| 2.1.2. Objetivos | <i>18</i> |
| 2.2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | <i>19</i> |
| 2.2.1. Fisiología de la lactancia temprana | <i>19</i> |
| 2.2.2. Efecto del tipo de dieta sobre la producción y composición de la leche | <i>20</i> |
| 2.2.3. Importancia de los precursores glucogénicos en la producción y composición de la leche | <i>24</i> |
| 2.2.4. Suplementación de vacas lecheras en pastoreo con concentrados energéticos ... | <i>26</i> |

| | |
|---|-----------|
| 2.2.4.1. Efectos sobre el consumo de materia seca, la producción y la composición de la leche | 26 |
| 2.2.4.2. Efectos sobre el ambiente y la digestión ruminal | 31 |
| 2.2.4.3. Efectos sobre el valor funcional de la leche | 34 |
| 2.3. MATERIALES Y MÉTODOS | 38 |
| 2.3.1. Lugar experimental y animales | 38 |
| 2.3.2. Tratamientos | 38 |
| 2.3.3. Mediciones | 39 |
| 2.3.3.1. Biomasa de forraje | 39 |
| 2.3.3.2. Composición química de los alimentos | 39 |
| 2.3.3.3. Producción y composición de leche | 40 |
| 2.3.3.4. Peso vivo y condición corporal | 41 |
| 2.3.3.5. Consumo de materia seca y energía | 41 |
| 2.3.3.6. Concentración plasmática de metabolitos y hormonas | 43 |
| 2.3.3.7. Ambiente y digestión ruminal | 44 |
| 2.3.4. Análisis estadísticos | 46 |
| 2.4. RESULTADOS ENSAYO 1 | 48 |
| 2.4.1. Composición química de los alimentos | 48 |
| 2.4.2. Producción y composición de la leche | 48 |
| 2.4.3. Consumo de MS y energía | 50 |
| 2.4.4. Variación de peso vivo y condición corporal | 51 |
| 2.4.5. Concentración plasmática de metabolitos y hormonas | 51 |
| 2.4.6. Ambiente y digestión ruminal | 52 |
| 2.5. DISCUSIÓN ENSAYO 1 | 59 |
| 2.5.1. Características de las pasturas utilizadas | 59 |

| | |
|---|------------|
| 2.5.2. Producción y composición de la leche | 60 |
| 2.5.3. Consumo de MS y energía | 62 |
| 2.5.4. Variación de peso vivo y condición corporal y concentración plasmática de metabolitos y hormonas | 64 |
| 2.5.5. Ambiente y digestión ruminal | 65 |
| 2.6. CONCLUSIONES ENSAYO 1 | 69 |
| 2.7. RESULTADOS ENSAYO 2 | 70 |
| 2.7.1. Composición química de los alimentos | 70 |
| 2.7.2. Producción y composición de la leche | 71 |
| 2.7.3. Consumo de MS y energía | 73 |
| 2.7.4. Variación de peso vivo y condición corporal | 74 |
| 2.7.5. Concentración plasmática de metabolitos y hormonas | 74 |
| 2.7.6. Ambiente y digestión ruminal | 75 |
| 2.7.7. Valor funcional de la leche | 81 |
| 2.8. DISCUSIÓN ENSAYO 2 | 83 |
| 2.8.1. Producción y composición de la leche | 83 |
| 2.8.2. Consumo de MS y energía | 85 |
| 2.8.3. Variación de peso vivo y condición corporal y concentración plasmática de metabolitos y hormonas | 86 |
| 2.8.4. Ambiente y digestión ruminal | 87 |
| 2.8.5. Valor funcional de la leche | 89 |
| 2.9. CONCLUSIONES ENSAYO 2 | 92 |
| 2.10. CONCLUSIONES GENERALES | 93 |
| 2.11. BIBLIOGRAFÍA | 94 |
| 3. ENSAYO 3 | 108 |

| | |
|---|------------|
| Resumen | 108 |
| Abstract | 109 |
| 3.1. INTRODUCCIÓN | 111 |
| 3.1.1. Hipótesis | 113 |
| 3.1.2. Objetivos | 113 |
| 3.2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 114 |
| 3.2.1. Sistemas pastoriles de producción de leche | 114 |
| 3.2.2. Alternativas para superar las limitantes de los sistemas pastoriles | 116 |
| 3.2.3. Sistemas de alimentación basados en raciones totalmente mezcladas | 117 |
| 3.2.4. Sistemas de alimentación combinando TMR y pastura | 119 |
| 3.2.4.1. Respuestas productivas | 119 |
| 3.2.4.2. Ambiente y digestión ruminal | 127 |
| 3.2.5. Efecto del sistema de producción sobre la salud de la glándula mamaria | 130 |
| 3.2.6. Efecto del sistema de producción sobre el comportamiento reproductivo | 133 |
| 3.3. MATERIALES Y MÉTODOS | 136 |
| 3.3.1. Lugar experimental y animales | 136 |
| 3.3.2. Tratamientos | 136 |
| 3.3.3. Mediciones | 138 |
| 3.3.3.1. Biomasa de forraje | 138 |
| 3.3.3.2. Composición química de los alimentos | 138 |
| 3.3.3.3. Producción y composición de leche | 139 |
| 3.3.3.4. Peso vivo y condición corporal | 140 |
| 3.3.3.5. Consumo de materia seca y energía | 140 |
| 3.3.3.6. Concentración plasmática de metabolitos y hormonas | 141 |

| | |
|---|------------|
| 3.3.3.7. Ambiente y digestión ruminal | 142 |
| 3.3.4. Análisis estadísticos | 144 |
| 3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 146 |
| 3.4.1. Composición química de los alimentos | 146 |
| 3.4.2. Producción y composición de la leche | 147 |
| 3.4.3. Consumo de MS y energía | 153 |
| 3.4.4. Peso vivo, condición corporal y concentración plasmática de metabolitos y hormonas | 157 |
| 3.4.5. Ambiente y digestión ruminal | 159 |
| 3.4.6. Valor saludable de la leche | 166 |
| 3.5. CONCLUSIONES | 172 |
| 3.6. BIBLIOGRAFÍA | 173 |
| 4. INTEGRACIÓN DE RESULTADOS | 186 |
| 4.1. BIBLIOGRAFÍA | 189 |
| 5. ENSAYO 4 | 190 |
| Resumen | 190 |
| Abstract | 191 |
| 5.1. INTRODUCCIÓN | 194 |
| 5.1.1. Hipótesis | 196 |
| 5.1.2. Objetivos | 196 |
| 5.2. MATERIALES Y MÉTODOS | 197 |
| 5.2.1. Lugar experimental y animales | 197 |
| 5.2.2. Tratamientos | 197 |
| 5.2.3. Mediciones | 198 |

| | |
|---|------------|
| 5.2.3.1. Biomasa de forraje | 198 |
| 5.2.3.2. Composición química de los alimentos | 199 |
| 5.2.3.3. Producción y composición de leche | 199 |
| 5.2.3.4. Peso vivo y condición corporal | 200 |
| 5.2.3.5. Consumo de materia seca | 200 |
| 5.2.3.6. Concentración plasmática de metabolitos y hormonas | 201 |
| 5.2.3.7. Comportamiento reproductivo | 201 |
| 5.2.3.8. Evaluación económica | 202 |
| 5.2.4. Análisis estadísticos | 202 |
| 5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 203 |
| 5.3.1. Composición química de los alimentos | 203 |
| 5.3.2. Producción y composición de la leche | 204 |
| 5.3.3. Consumo de MS y energía | 209 |
| 5.3.4. Variación de peso vivo y condición corporal y concentración plasmática de metabolitos y hormonas | 211 |
| 5.3.5. Comportamiento reproductivo | 213 |
| 5.3.6. Evaluación económica | 215 |
| 5.4. CONCLUSIONES | 218 |
| 5.5. BIBLIOGRAFÍA | 219 |
| 6. CONCLUSIONES FINALES | 225 |
| 7. APENDICE | 228 |

INDICE DE CUADROS

| | |
|--|----|
| Cuadro 1. Composición química de los alimentos utilizados (Ensayo 1). | 48 |
| Cuadro 2. Producción y composición de leche en vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 1). | 49 |
| Cuadro 3. Consumo de MS y EN _L en vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 1). | 50 |
| Cuadro 4. Variación de peso vivo (Δ PV) y de condición corporal (Δ CC) en vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 1). | 51 |
| Cuadro 5. Concentración plasmática de metabolitos y hormonas en vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 1). | 52 |
| Cuadro 6. Ambiente ruminal en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 1). | 53 |
| Cuadro 7. Cinética de desaparición ruminal del almidón del concentrado en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 1). | 55 |
| Cuadro 8. Cinética de desaparición ruminal de la pared celular (PC) del forraje en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 1). | 57 |
| Cuadro 9. Composición química de los alimentos utilizados (Ensayo 2). | 70 |
| Cuadro 10. Producción y composición de leche en vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 2). | 72 |
| Cuadro 11. Consumo de MS y EN _L en vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 2). | 73 |
| Cuadro 12. Variación de peso vivo (Δ PV) y de condición corporal (Δ CC) en vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 2). | 74 |
| Cuadro 13. Concentración plasmática de metabolitos y hormonas en vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 2). | 75 |

| | |
|--|-----|
| Cuadro 14. Ambiente ruminal en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 2). | 76 |
| Cuadro 15. Cinética de desaparición ruminal del almidón del concentrado en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 2). | 78 |
| Cuadro 16. Cinética de desaparición ruminal de la pared celular (PC) del forraje en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 2). | 79 |
| Cuadro 17. Concentración de ácidos grasos (AG) en la leche de vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado. | 81 |
| Cuadro 18. Concentración de vitaminas en la grasa butirosa (GB) de vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado. .2 | |
| Cuadro 19. Composición química de los alimentos utilizados (Ensayo 3). | 146 |
| Cuadro 20. Producción y composición de leche en vacas lecheras alimentadas con 100% TMR (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura. | 148 |
| Cuadro 21. Consumo de MS y EN _L en vacas lecheras alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura. | 154 |
| Cuadro 22. Variación de peso vivo (Δ PV), condición corporal (CC) y concentración plasmática de metabolitos y hormonas en vacas lecheras alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura. | 158 |
| Cuadro 23. Ambiente ruminal en vacas fistuladas alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura. | 160 |
| Cuadro 24. Cinética de desaparición ruminal de la MS y de la pared celular (PC) de la avena en vacas fistuladas alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura. | 163 |
| Cuadro 25. Cinética de desaparición ruminal de la MS y de la pared celular (PC) del ensilaje de maíz en vacas fistuladas alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura. | 165 |
| Cuadro 26. Concentración de ácidos grasos (AG) en la leche de vacas lecheras alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura. | 167 |
| Cuadro 27. Concentración de vitaminas en la grasa butirosa (GB) de vacas lecheras alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura. | 170 |

| | |
|--|-----|
| Cuadro 28. Composición química de los alimentos utilizados (Ensayo 4). | 203 |
| Cuadro 29. Producción y composición de leche en vacas bajo dos sistemas de alimentación diferentes según períodos. | 205 |
| Cuadro 30. Consumo de MS, EN _L y eficiencia de conversión (EC) en vacas bajo dos sistemas de alimentación diferentes según períodos. | 209 |
| Cuadro 31. Variación (Δ) de peso vivo (PV) y condición corporal (CC) y concentración plasmática de metabolitos y hormonas en vacas bajo dos sistemas de alimentación diferentes según períodos. | 211 |
| Cuadro 32. Comportamiento reproductivo en vacas bajo dos sistemas de alimentación diferentes. | 213 |
| Cuadro 33. Evaluación económica de dos sistemas de alimentación diferentes según períodos. | 215 |
| Cuadro 34. Litros libres de alimentación en función de cambios en el precio de la leche y/o en los costos de alimentación de dos sistemas de alimentación diferentes según períodos. | 216 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|---|-----|
| Figura 1. Metabolismo energético de vacas lactantes en balance energético negativo. . | 20 |
| Figura 2. Evolución del pH ruminal en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 1). | 54 |
| Figura 3. Evolución del N _{NH3} ruminal en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 1). | 55 |
| Figura 4. Desaparición del almidón en función del tiempo de incubación en rumen en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 1). | 56 |
| Figura 5. Desaparición de la pared celular (PC) del forraje en función del tiempo de incubación en rumen en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 1). | 58 |
| Figura 6. Evolución del pH ruminal en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 2). | 76 |
| Figura 7. Evolución del N _{NH3} ruminal en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 2). | 77 |
| Figura 8. Desaparición del almidón en función del tiempo de incubación en rumen en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 2). | 79 |
| Figura 9. Desaparición de la pared celular (PC) del forraje en función del tiempo de incubación en rumen en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d ⁻¹ (T10.5) de concentrado (Ensayo 2). | 80 |
| Figura 10. Consumo de MS en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR (datos de la bibliografía). | 122 |
| Figura 11. Producción de leche en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR (datos de la bibliografía). | 123 |
| Figura 12. Producción de leche energía corregida (LEC) en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR (datos de la bibliografía). | 124 |
| Figura 13. Producción de grasa en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR (datos de la bibliografía). | 125 |
| Figura 14. Producción de proteína en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR (datos de la bibliografía). | 126 |

| | |
|--|-----|
| Figura 15. Eficiencia de conversión (EC) en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR (datos de la bibliografía). | 126 |
| Figura 16. Producción de leche energía corregida (LEC) en vacas lecheras alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura. | 149 |
| Figura 17. Producción de leche en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR (datos de la bibliografía vs. datos Ensayo 3). | 150 |
| Figura 18. Producción de leche energía corregida (LEC) en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR (datos de la bibliografía vs datos Ensayo 3) 151 | |
| Figura 19. Producción de grasa en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR (datos de la bibliografía vs. datos Ensayo 3). | 152 |
| Figura 20. Producción de proteína en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR (datos de la bibliografía vs. datos Ensayo 3). | 153 |
| Figura 21. Consumo de MS en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR (datos de la bibliografía vs. datos Ensayo 3). | 155 |
| Figura 22. Eficiencia de conversión (EC) en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR (datos de la bibliografía vs. datos Ensayo 3). | 156 |
| Figura 23. Evolución del pH ruminal en vacas fistuladas alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura. | 161 |
| Figura 24. Evolución del N _{NH3} ruminal en vacas fistuladas alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura. | 162 |
| Figura 25. Relación entre producción de leche y nivel de suplementación con concentrado en vacas lecheras en pastoreo. | 187 |
| Figura 26. Evolución de la producción de leche en vacas bajo dos sistemas de alimentación diferentes. | 207 |

RESUMEN GENERAL

Los sistemas pastoriles de producción de leche utilizan concentrados energéticos y raciones completamente mezcladas (TMR) cuando la tasa de crecimiento de la pastura y la cantidad de forraje disponible resultan limitantes del consumo y la producción. Los trabajos de niveles de suplementación con concentrado en primavera demostraron que el consumo creciente de concentrado genera efectos aditivos incrementando la producción de leche y el contenido de caseína hasta un 40% del total de MS consumida. Una mayor absorción de energía glucogénica no incrementó la concentración proteica de la leche, pero permitiría aumentar la producción de proteína láctea y caseínas y reducir el tenor ureico de la leche y la concentración de nitrógeno amoniacal en el rumen. La producción o concentración de grasa láctea, la digestión ruminal de la FDN de la pastura y los parámetros relacionados con el valor saludable de la grasa láctea no fueron afectados en el rango de consumo de concentrado estudiado (15 al 40% de la MS total consumida). La ecuación de respuesta marginal ajustada [Leche (kg día^{-1}) = $25,95 + 0,774 \times \text{kg MS concentrado}$ ($P < 0,042$; $R^2 = 0,37$)] indicó que la producción de leche incrementa linealmente a medida que la cantidad de concentrado aumenta desde 2,7 a 11,6 $\text{kg MS vaca}^{-1} \text{ día}^{-1}$, con una respuesta de 0,774 $\text{kg leche kg MS concentrado adicional}^{-1}$. Los trabajos de reemplazo de pastura por TMR indicaron un incremento lineal de la producción de leche y sólidos ante consumos crecientes de TMR en reemplazo de pastura cuando los mismos (TMR) representaron entre el 30 y el 100% de la MS total consumida por vacas produciendo 27,0-34,0 kg leche día^{-1} , sin efectos sobre los contenidos de grasa y proteína. Las combinaciones de TMR y pastura evaluadas no indujeron cambios en el ambiente ruminal ni generaron efectos asociativos negativos sobre la degradación ruminal de la FDN de los forrajes. Por lo tanto, los efectos positivos del consumo de creciente de TMR sobre la producción de leche no estarían explicados por un mejor equilibrio de nutrientes a nivel ruminal. La calidad nutricional y antioxidante de la leche disminuyó a medida que la cantidad de pastura consumida fue menor debido al menor contenido de ácidos grasos saludables como el ruménico y el linolénico y la reducción en el contenido de vitaminas antioxidantes. Tomados en conjunto, los resultados confirman que el sistema pastoril con suplementación es una alternativa económicamente competitiva comparada con el sistema confinado. Una estrategia viable para vacas de parición otoñal sería utilizar una PMR (75% TMR:25% pastura) durante otoño-invierno que permita sostener altas producciones de leche y luego en primavera con vacas en etapas más

avanzadas de lactancia aprovechar los menores costos del pastoreo y utilizar las pasturas con una suplementación estratégica.

ABSTRACT

In dairy pasture based systems cows are strategically supplemented with energy concentrates or total mixed rations (TMR) when the rate of growth of the pasture and/or the amount of available forage are limiting DM intake and hence milk production. In the spring trials, increased levels of concentrate intake in grazing dairy cows showed additive effects on DM and energy intake. Milk production, milk protein and milk casein output were enhanced when concentrate intake represented up to 40% of total DM intake whereas fat yield or milk fat content were not affected. The putatively higher absorption of glycogenic energy did not increase milk protein content but allow to increase milk protein and caseins yields reducing milk urea content and concentration of ammonia nitrogen in the rumen. Ruminant pasture NDF digestion and parameters linked to healthy value of milk fat were not affected in the range of concentrate intake assayed (15 to 40% of the total DM intake). The response equation adjusted to concentrate feeding [Milk (kg day⁻¹) = 25.95 + 0.774 x kg DM concentrate ($P < 0.042$, $R^2 = 0.37$)] indicated that milk production increased linearly as the amount of concentrate intake increased from 2.7 to 11.6 kg MS cow⁻¹ day⁻¹ showing a marginal response of 0.774 kg milk per additional kg of DM concentrate. Experiments that examined the replacement of autumn-winter pastures for TRM showed linear increments in milk yield and solids as intake of TMR was increased from 30 to 100% of total DM intake in dairy cows producing from 27 to 34 kg milk day⁻¹ without effects on milk fat or protein contents. Combinations of TMR and pasture did not induce changes in ruminal environment or negative associative effects on pasture NDF degradation. Therefore, the positive effects of increasing TMR intake on milk production would not be explained by a better nutrient balance at the ruminal level. The nutritional and antioxidant quality of milk decreased as the amount of pasture intake was lower due to a lower content of the healthy milk fatty acids (rumenic and linolenic) and the reduction in the content of antioxidant vitamins. Taken together, the results confirm that the pasture based system with strategically supplementation is an economically and competitive alternative compared to the confined system. A viable strategy for autumn calving cows would be to use a partial mixed ration (75% TMR: 25% pasture) during autumn-winter to maximize milk pic yield and later use the spring pastures with a strategic concentrate-supplementation to take advantage of the residual effects and the lower costs of grazing feeding.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

En Argentina, la competencia de la agricultura por el uso de la tierra y su consecuente aumento de valor ha generado interrogantes sobre la continuidad de los sistemas ganaderos con alternativas de dedicarse a la actividad agrícola, convertirse a sistemas mixtos o implementar estrategias que permitan aumentar la producción y ser más eficientes en el uso de la tierra (Ramírez *et al.*, 2007).

Asimismo, el replanteo de los actuales sistemas de producción de leche y la consecuente necesidad de generar información como soporte para la toma de decisiones que permitan orientar los cambios requeridos, no es exclusividad de la Argentina. En tal sentido, investigadores australianos (García, Fulkerson y Brookes, 2008) sostienen que a raíz de la incrementada competencia por tierras agrícolas y agua existe una necesidad de investigar en nuevos sistemas de producción de leche que combinen ganancias sustanciales en productividad con un mínimo o ningún efecto adverso sobre el medio ambiente. Fontaneli *et al.* (2005) afirman que en EEUU, donde los sistemas confinados son muy populares, la producción de leche basada en pasturas manejadas intensivamente es un sistema que crece rápidamente y las principales razones para ello son: 1) los menores gastos en alimentación, equipos e infraestructura, llevando potencialmente a un mayor ingreso/vaca; 2) las reportadas mejoras en salud animal y reproducción (menos descartes); 3) la creciente presión de los organismos reguladores y los intereses ambientales para reducir la acumulación centralizada de residuos ganaderos y 4) la mejora en la calidad de vida de los administradores (menos estrés, más tiempo libre, etc.). A su vez, en una revisión sobre las perspectivas de la cadena láctea irlandesa, Dillon *et al.* (2008) afirman que la adquisición y aplicación de nuevas habilidades y conocimientos para desarrollar sistemas de producción de leche más eficientes es un requisito fundamental en el futuro.

En este contexto, el Programa Nacional Leches del INTA (Proyecto INTA PNLEC - 071011, 2009-2012) detectó una demanda creciente de información sobre sistemas de alimentación intensificados, que incluyan estrategias de confinamiento parcial o completo en reemplazo del pastoreo.

Los sistemas de producción de leche tienden a la intensificación con distintas variantes. Una de ellas consiste en la estabulación completa y el reemplazo total del pastoreo por raciones equilibradas llamadas raciones totalmente mezcladas (TMR, por sus siglas en inglés) basadas en alguna combinación de forrajes conservados, concentrados a base de

granos de cereales y subproductos de la agroindustria. Entre las principales ventajas atribuidas a este sistema de alimentación se destacan la de permitir la expresión del potencial de producción de leche en vacas de alto mérito genético y la simplicidad en la determinación del consumo de alimento y monitoreo de los costos de alimentación. Las TMR en rodeos bien manejados son capaces de sostener una producción por encima de los 10.000 kg leche/lactancia. Como contrapartida, los costos de producción suelen ser altos, principalmente de alimentación y mano de obra, los cuales representan en conjunto más del 50% de los mismos (Short, 2004).

Otra alternativa de intensificación es la combinación de TMR y pastoreo, lo cual se conoce como ración parcialmente mezclada (PMR, por sus siglas en inglés) debido a que la pastura no es físicamente parte de la TMR. Este sistema de alimentación semi-confinado podría ser una alternativa útil para los productores lecheros que evalúan la transición hacia la adopción de sistemas confinados y su implementación permitiría obtener ventajas parciales de ambos sistemas. El uso de la pastura reduciría el costo de alimentación (White *et al.*, 2002) y mejoraría la salud del rodeo (Soriano, Polan y Miller, 2001; Washburn *et al.*, 2002).

Si bien Argentina no es ajena a la tendencia mundial de intensificación de los tambos (Gastaldi *et al.*, 2015), el pasto sigue siendo reconocido como el alimento más económico para alimentar al ganado. Sobre este aspecto, se mostró con un alto grado de asociación ($r = 0,91$), que el costo de producir un litro de leche se incrementa significativamente a medida que disminuye la proporción de pastura en la dieta (Dillon *et al.*, 2008). Sin embargo, la pastura como único alimento resulta insuficiente para que las vacas de alto mérito genético expresen su máximo potencial de producción (Kolver, 2003). El menor consumo de materia seca (MS) y energía sería la principal causa de producciones subóptimas aún en condiciones de adecuada cantidad y calidad de pastura (Kolver y Muller, 1998; Reis y Combs, 2000; Bargo *et al.*, 2002a).

Las vacas de mayor potencial se adaptan a la alimentación pastoril a través de un mayor consumo de forraje (180 g MS de pasto/kg de leche extra al pico de producción), pero para maximizarlo es necesario asegurar ofertas elevadas del orden de 60 kg MS/vaca/día (Delagarde, Peyraud y Delaby, 2004). Incrementar la oferta de forraje para alcanzar el potencial de consumo de la vaca genera a su vez alturas crecientes en la biomasa residual

de fin de pastoreo. Ello conduce a una baja eficiencia de cosecha y a un deterioro progresivo en la calidad del pasto (Peyraud y Delaby, 2005).

Con las asignaciones utilizadas en Argentina (25-40 kg MS por vaca/día) el consumo de pastura estaría afectado y no alcanzaría a satisfacer el potencial de la vaca. El consumo total de MS parece oscilar entre el 2,2% del peso vivo (PV) en pastoreo otoño-invernal de avena (Cangiano *et al.*, 1996) y el 3,2% del PV en condiciones de pastoreo primaveral y oferta no limitante de forraje (Peyraud *et al.*, 1996), mientras que en la vaca suplementada con concentrados o TMR el consumo total de MS puede alcanzar valores de hasta el 4% (Muller y Fales, 1998; Bargo *et al.*, 2002b). La producción máxima obtenible sobre pasturas de alta calidad en primavera parecería situarse en alrededor de 23 kg leche vaca⁻¹ día⁻¹ (Delaby y Peyraud, 1997) y 18 kg vaca⁻¹ día⁻¹ en otoño-invierno (Gagliostro, Lavandera y Santini, 1997). Producciones mayores serían obtenibles si la condición corporal de los animales permite la movilización de energía endógena. En la zona de producción límite, la suplementación energética puede mejorar la respuesta productiva (Bargo *et al.*, 2003) y la recuperación de reservas corporales (Delaby y Peyraud, 2003).

A su vez, en los sistemas de alimentación base pastoril la producción de leche puede verse afectada por desbalances ruminales entre la disponibilidad de energía fermentable y la proteína degradable (PDR) (Beever y Siddons, 1986). En este sentido, la utilización de la PDR proveniente de la pastura puede mejorarse a través de un mayor consumo de concentrados ricos en almidón y azúcares (Van Vuuren, Tamminga y Ketelaar, 1990; Reis y Combs, 2000). Sin embargo, cuando se utilizan altos niveles de suplementación con carbohidratos no estructurales en vacas lecheras consumiendo pasturas de alta calidad, el pH ruminal, el patrón diario de concentración de AGV y la digestión de la fibra (FDN) pueden verse alterados a causa de cambios en la fermentación ruminal (Tamminga, 1993; Bargo *et al.*, 2002a). Estos cambios pueden inducir un menor consumo de forraje y una caída en el contenido de la grasa butirosa de la leche. En el presente trabajo de tesis se incorporaron mediciones de parámetros de ambiente ruminal y de ambiente metabólico a fines de una mejor comprensión de los resultados obtenidos.

En resumen, para vacas de alto mérito genético, la pastura como único alimento puede considerarse como un recurso desbalanceado, con bajos contenidos de MS y carbohidratos no estructurales (CNE), excesos de PDR, déficit de proteína no degradable en rumen de alto valor biológico y desbalances entre CNE y PDR (Holden, Muller y Fales, 1994; Muller

y Fales, 1998). En estas condiciones, los consumos son subóptimos y el potencial de producción individual no se alcanza. El déficit energético y la lipomobilización inducida pueden generar trastornos metabólicos y reproductivos. La suplementación permitiría superar dichas limitantes.

Resulta necesario conocer el impacto que el sistema de alimentación tiene sobre el valor saludable de la leche ya que cuanto más alto sea el nivel de inclusión de concentrado o de TMR en la dieta en detrimento del de pastura mayor será en riesgo de afectar el valor saludable final de los lácteos. Es sabido que el índice de aterogenicidad puede aumentar y el contenido de moléculas bioactivas con propiedades benéficas para la salud (ácido vaccénico, AV, *trans*-11 C18:1; ácido ruménico, AR, 9-*cis* 11-*trans* C18:2 CLA; ácido α -linolénico, C18:3n-3; vitaminas antioxidantes) disminuir cuando la inclusión de forraje verde es fuertemente disminuida (Dhiman *et al.*, 1999; Looor *et al.*, 2003; Martin *et al.*, 2004; Bargo *et al.*, 2006; Nozière *et al.*, 2006; Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010). Se intentará cuantificar el riesgo en la pérdida de valor funcional de los lácteos argentinos en la medida que se evoluciona hacia alimentación estabulada o niveles altos de concentrados energéticos, con el objetivo de evitar el alejamiento de los potenciales mercados que buscan leche y/o productos lácteos diferenciados.

1.1. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

El tipo de pastura y/o la época del año pueden interactuar con la respuesta a la suplementación. Por lo tanto, se propuso evaluar la respuesta productiva a la suplementación según época del año (primavera y otoño-invierno) y tipo de suplemento (concentrado y TMR).

A) En primavera, la estrategia más utilizada es el uso de concentrados ya que la cantidad de forraje no es en general limitante. Se realizaron ensayos de tipo dosis-respuesta a niveles crecientes de concentrado energético (Ensayos 1 y 2) con el objetivo de proponer la cantidad más adecuada de concentrado a suplementar en primavera según el nivel de producción de la vaca. Se trabajó con alimentos pelletizados para favorecer el consumo de concentrado y alcanzar niveles altos de suplementación de la zona de dosis-respuesta. Dicho concentrado debería contribuir a superar las limitantes que normalmente presentan las pasturas base alfalfa, las cuales pueden resumirse en bajos niveles de MS, excesos de PDR y desbalances entre CNE y PDR que pueden limitar el suministro de aminoácidos

metabolizables necesarios para la síntesis de leche (Jones-Endsley, Cecava y Johnson, 1997; Reis y Combs, 2000).

Los experimentos implementados se diseñaron sin forzar la sustitución de pastura por concentrado a fines de lograr efectos de adición en el consumo total de energía. Los resultados obtenidos por el grupo de nutrición y metabolismo de la EEA INTA Balcarce no indicaron incrementos de producción o de eficiencia de conversión cuando el consumo total de energía fue ajustado a través de una reducción en la oferta de pastura en vacas en inicio de lactancia. El cambio en la naturaleza de la energía ingerida (grano de maíz vs pastura) no provocó los efectos deseados sobre la eficiencia de conversión (Barbera, 2009; Luparia, 2009).

B) Las situaciones de pastoreo otoño-invernal suponen contar con recursos forrajeros con menor contenido de MS y con desbalances energía/proteína. Asimismo, la cantidad de forraje resulta en general limitante. La producción máxima obtenible sólo con pasturas en estas condiciones sería inferior a la lograda en pastoreos de primavera, siendo la suplementación con TMR una opción válida para superar estas limitantes. Con el objetivo de proponer la combinación más adecuada de TMR y pastura en otoño-invierno se realizó un ensayo de reemplazo de pastura por niveles crecientes de TMR tomando como tratamiento control el 100% de TMR en la dieta (Ensayo 3). La estrategia permitiría introducir la noción de “producción potencial” obtenible en confinamiento (100% TMR) ya que estas TMR estarían teóricamente bien balanceadas sin presentar limitantes para la expresión del potencial de producción de leche, sólidos y eficiencia de conversión de la vaca. Se generaría además información sobre niveles de producción, eficiencias de conversión y costos en condiciones de alimentación estabulada. No hay trabajos publicados en el País que examinen la respuesta productiva de las vacas ante el reemplazo gradual de pastura por TMR y a nivel internacional los antecedentes son escasos (Vibart *et al.*, 2008; Fajardo *et al.*, 2015). En experimentos de 8 semanas de duración conducidos en otoño y primavera, Vibart *et al.* (2008) informaron que en otoño la pastura puede ser incluida hasta en un 41% del total de la PMR sin afectar la respuesta productiva en comparación con un sistema TMR y concluyeron que este valor umbral requerirá futura investigación en términos de expandir las cantidades de pastura de alta calidad suministradas en relación a las cantidades de TMR. Por este motivo, en el presente trabajo de tesis se incorporó dentro de los tratamientos a probar la combinación 25% TMR: 75% pastura.

C) Integración de resultados. Los resultados obtenidos en los ensayos planteados en A y B fueron analizados e interpretados con la finalidad de proponer un sistema mejorado de producción de leche, probado durante el último año del proyecto contra un control positivo (100% TMR). Se incluyeron también en este análisis los resultados de dos ensayos similares a los propuestos el punto A del presente proyecto realizados en la EEA INTA Balcarce. Esta fase buscó determinar la “mejor” opción dietaria diferente a la TMR para en un ensayo posterior (Estudio D) proceder a comparar ambas opciones.

D) Finalmente, se propuso realizar un ensayo de largo plazo (Ensayo 4) comparando diferentes sistemas de alimentación en un mismo grupo de animales de parición otoñal. Sistema 1: mejor combinación PMR durante otoño-invierno y mejor combinación pastura + concentrado durante la primavera (que surgirá del análisis propuesto en C) vs. Sistema 2: 100% TMR durante todo el período.

1.2. HIPÓTESIS GENERALES

1. Existirían niveles de suplementación energética en primavera y combinaciones de pastura y TMR en otoño-invierno que mejorarían la respuesta productiva de vacas lecheras en pastoreo a través de un mayor consumo de energía y un mejor balance de nutrientes para producción de leche.

2. El conocimiento de estas relaciones permitiría proponer sistemas pastoriles mejorados capaces de generar respuestas productivas comparables a sistemas en confinamiento a un menor costo y con un mayor valor saludable de la leche.

1.3. OBJETIVOS GENERALES

- Generar estrategias de suplementación para sistemas pastoriles mejorados ajustadas por tipo de suplemento (concentrado o TMR) según época del año (primavera u otoño-invierno) a fines de mejorar la respuesta productiva del rodeo.
- Conocer los efectos de la aplicación de diferentes sistemas de alimentación sobre la producción y composición de la leche, la eficiencia de conversión y el valor funcional de la leche.
- Evaluar la viabilidad económica de los sistemas utilizando indicadores simples.

1.4. BIBLIOGRAFÍA

- BARBERA, P. 2009. Efecto del reemplazo de pastura con grano de maíz sobre la producción y composición de la leche en vacas lecheras en primavera. Tesis Magister Scientiae. Universidad Nacional de Mar del Plata. Facultad de Ciencias Agrarias, Balcarce, Argentina. 51 p.
- BARGO, F.; MULLER, L.D.; DELAHOY, J.E.; CASSIDY, T.W. 2002a. Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. *J. Dairy Sci.* 85: 1777–1792.
- BARGO, F.; MULLER, L.D.; DELAHOY, J.E.; CASSIDY, T.W. 2002b. Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 85: 2948–2963.
- BARGO, F.; MULLER, L.D.; KOLVER, E.S.; DELAHOY, J.E. 2003. Invited review: production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. *J. Dairy Sci.* 86: 1–42.
- BARGO, F.; DELAHOY, J.E.; SCHROEDER, G.F.; BAUMGARD, L.H.; MULLER, L.D. 2006. Supplementing total mixed rations with pasture increase the content of conjugated linoleic acid in milk. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131: 226-240.
- BEEVER, D.E.; SIDDON, R.C. 1986. Digestion and metabolism in grazing ruminants. In: Milligan, L.P.; Grovum, W.L.; Dobson, A. (eds.). *Control of Digestion and Metabolism in Ruminants*. Prentice-Hall, Banff, Canada pp.479-497.
- CANGIANO, C.A.; GALLI, J.; PRELIASCO, P. 1996. Suplementación con concentrados de rápida y lenta degradabilidad ruminal del almidón en pastoreo de otoño. 2. Consumo de forraje. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 16 (supl. 1): 128-129.
- DELABY, L.; PEYRAUD, J.L. 1997. Influence of concentrate supplementation strategy on grazing dairy cow's performance. In: Christie, B.R. (ed.), *Proceedings of the XVIII International Grassland Congress, Winnipeg, Canada. Session 29*, pp. 137–138.
- DELABY, L.; PEYRAUD, J.L. 2003. The effect of two contrasting grazing managements and level of concentrate supplementation on the performance of grazing dairy cows. *Anim. Res.* 52: 437-460.
- DELAGARDE, R.; PEYRAUD, J.L.; DELABY, L. 2004. High grazing pressure in early-spring increases herbage intake of grazing dairy cows in late-spring. In: *Land Use Systems in Grassland Dominated Regions. Proc. 20th General Meeting of EGF, 21-24 June, Lucerna, Suiza*, pp.647-649.
- DHIMAN, T.R.; ANAND, G.R.; SATTER, L.D.; PARIZA, M.W. 1999. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *J. Dairy Sci.* 82: 2146–2156.

- DILLON, P.; HENNESSY, T.; SHALLOO, L.; THORNE, F.; HORAN, B. 2008. Future outlook for the Irish dairy industry: A study of international competitiveness, influence of international trade reform and requirement for change: Review. *Int. J. Dairy Technol.* 61: 16-29.
- FAJARDO, M.; MATTIAUDA, D.A.; MOTTA, G.; GENRO, T.C.; MEIKLE, A.; CARRIQUIRY, M.; CHILIBROSTE, P. 2015. Use de mixed rations with different access time to pastureland on productive responses of early lactation holstein cows. *Livest. Sci.* 181: 51-57.
- FONTANELI, R.S.; SOLLENBERGER, L.E.; LITTELL, R.C.; STAPLES, C.R. 2005. Performance of lactating dairy cows managed on pasture-based or in free stall barn-feeding systems. *J. Dairy Sci.* 88: 1264-1276.
- GAGLIOSTRO, G.A.; LAVANDERA, S.E.; SANTINI, F.J. 1997. Feeding corn and barley-based concentrates to grazing dairy cows in autumn. 1. Milk production and plasma metabolite concentrations. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 17 (1): 1-12.
- GARCIA, S.C.; FULKERSON, W.J.; BROOKES S.U. 2008. Dry matter production, nutritive value and efficiency of nutrient utilization of a complementary forage rotation compared to a grass pasture system. *Grass Forage Sci.* 63: 284-300.
- GASTALDI, L.; LITWIN, G.; MAEKAWA, M.; CENTENO, A.; ENGLER, P.; CUATRIN, A.; CHIMICZ, J.; FERRER, J.L.; SUERO M. 2015. El tambo argentino: una mirada integral de los sistemas de producción de leche de la Región Pampeana. Recuperado de: https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_el_tambo_argentino_mirada_integral_sis_prod_leche_pamp_abril_2015.pdf
- HOLDEN, L.A.; MULLER, L.D.; FALES, S.L. 1994. Estimation of intake in high producing Holstein cows grazing grass pasture. *J. Dairy Sci.* 77: 2332-2340.
- JONES-ENDSLEY, J.M.; CECAVA, M.J.; JOHNSON, T.R. 1997. Effects of dietary supplementation on nutrient digestion and the milk yield of intensively grazed lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80: 3283-3292.
- KOLVER, E.S.; MULLER, L.D. 1998. Performance and nutrient intake of high producing Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 81: 1403-1411.
- KOLVER, E.S. 2003. Nutritional limitations to increased production on pasture-based systems. *Proc. Nutr. Soc.* 62: 291-300.
- LOOR, J.J.; SORIANO, F.D.; LIN, X.; HERBEIN, J.H.; POLAN, C.E. 2003. Grazing allowance after the morning or afternoon milking for lactating dairy cows fed a total mixed ration (TMR) enhances trans 11-18:1 and cis 9, trans 11-18:2 (rumenic acid) in milk fat to different extents. *Anim. Feed Sci. Technol.* 109: 105-119.
- LUPARIA, F. 2009. Efecto de la suplementación con grano de maíz alto aceite sobre la concentración de sólidos útiles en leche y de ácido linoleico conjugado (CLA) en vacas en inicio de lactancia y en alimentación pastoril. Tesis Magister Scientiae. Universidad nacional de Mar del Plata. Facultad de Ciencias Agrarias, Balcarce, Argentina. 87p.

- MARTIN, B.; FEDELE, V.; FERLAY, A.; GROLIER, P.; ROCK, E.; GRUFFAT, D.; CHILLIARD, Y. 2004. Effects of grass-based diets on the content of micronutrients and fatty acids in bovine and caprine dairy products. In: Lüscher, A. et al. (eds.), *Land Use Systems in Grassland Dominated Regions*, vol. 9. Vdf, Zürich, pp. 876–886.
- MORALES-ALMARÁZ, E.; SOLDADO, A.; GONZÁLEZ, A.; MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, A.; DOMÍNGUEZ-VARA, I.; DE LA ROZA-DELGADO, B.; VICENTE, F. 2010. Improving the fatty acid profile of dairy cow milk by combining grazing with feeding of total mixed ration. *J. Dairy Res.* 77: 225–230.
- MULLER, L.D.; FALES, S.L. 1998. Supplementation of cool-season grass pastures for dairy cattle. In: Cherney, H.J.; Cherney, D.J.R.(eds.). *Grass for dairy cattle*. CAB International, pp. Pages 335-350
- NOZIÈRE, P.; GRAULET, B.; LUCAS, A.; MARTIN, B.; GROLIER, P.; DOREAU, M. 2006. Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131: 418–450.
- PEYRAUD, J.L.; COMERON, E.A.; WADE, M.H.; LEMAIRE, G. 1996. The effect of daily herbage allowance, herbage mass and animal factors upon herbage intake by grazing dairy cows. *Anna.Zootech.* 45 (3): 201-217.
- PEYRAUD, J.L.; DELABY, L. 2005. Combiner la gestion optimale du pâturage et les performances des vaches laitières: enjeux et utiles. *INRA Prod. Anim.* 18 (4): 231-240.
- RAMIREZ, L.M.; ZULIANI, S.B.; PORSTMANN, J.C.; LOPEZ, G.I. 2007. Evolución histórica de la rentabilidad de la agricultura y el tambo en el sur de Santa Fe - Periodos 1993/94 a 2004/05. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias – UNR.* VII (11): 23-34.
- REIS, R.B.; COMBS, D.K. 2000. Effects of increasing levels of grain supplementation on rumen environment and lactation performance of dairy cows grazing grass–legume pasture. *J. Dairy Sci.* 83: 2888–2898.
- SHORT, S.D. 2004. Characteristics and Production Costs of U.S. Dairy Operations. United States Department of Agriculture, Economic Research Service Statistical Bulletin No. 974–6. 20 p.
- SORIANO, F.D.; POLAN, C.E.; MILLER, C.N. 2001. Supplementing pasture to lactating Holsteins fed a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 84: 2460–2468.
- TAMMINGA, S. 1993. Influence of feeding management on ruminant fiber digestibility. In: Buxton, D.R. et al. (eds.). *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, pp. 571–602
- VAN VUUREN, A.M.; TAMMINGA, S.; KETELAAR, R.S. 1990. Ruminant availability of nitrogen and carbohydrates from fresh and preserved herbage in dairy cows. *Neth. J. Agric. Sci.* 38: 49–512.

- VIBART, R.E.; FELLNER, V.; BURNS, J.C.; HUNTINGTON, G.B.; GREEN, J.T. (Jr.). 2008. Performance of lactating dairy cows fed varying levels of total mixed ration and pasture. *J. Dairy Res.* 75: 471-480.
- WASHBURN, S.P.; WHITE, S.L.; GREEN, J.T. (Jr.); BENSON, G.A. 2002. Reproduction, mastitis, and body condition of seasonally calved Holstein and Jersey cows in confinement or pasture systems. *J. Dairy Sci.* 85: 105–111.

2. ENSAYOS 1 Y 2

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON NIVELES CRECIENTES DE CONCENTRADO ENERGÉTICO SOBRE LA RESPUESTA PRODUCTIVA, EL AMBIENTE Y DIGESTIÓN RUMINAL Y EL VALOR SALUDABLE DE LA LECHE DE VACAS LECHERAS EN PASTOREO DE ALFALFA Y EN PRIMER TERCIO DE LACTANCIA

RESUMEN

El objetivo de los experimentos fue determinar el efecto del suministro de tres niveles (T3.5, T7.0 y T10.5) de concentrado energético (3.5, 7.0 y 10.5 kg vaca⁻¹ día⁻¹) sobre el consumo de materia seca (MS) total y energía, producción y composición de leche, ambiente y digestión ruminal y valor saludable de la leche en vacas lecheras en pastoreo. Doce (Experimento 1) vacas multíparas de raza Holando Argentino con 69,0 (± 5) días en lactancia produciendo 32,8 (± 4,0) kg leche y 21 (Experimento 2) vacas multíparas de raza Holando Argentino con 70,2 (± 13) días en lactancia produciendo 37,1 (± 4,7) kg leche fueron asignadas a los tres tratamientos en un diseño crossover 3 x 3. Para los estudios de ambiente y cinética de digestión ruminal se utilizaron 3 vacas adicionales de la misma raza provistas de fístula ruminal permanente. El concentrado estaba compuesto (base húmeda) por grano de maíz (68%), harina de soja (22%), afrechillo de trigo (8%) y núcleo vitamínico-mineral con monensina. La pastura (*Medicago sativa*, sp) fue utilizada mediante un sistema de pastoreo rotativo en franjas diarias con una asignación de forraje de 30 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹. En el **Experimento 1**, las producciones (kg vaca⁻¹ día⁻¹) de leche, leche corregida al 4% de grasa (LGC 4%) y leche corregida por energía (LEC) resultaron mayores ($P < 0,05$) en T7.0 (29,6, 26,1 y 25,7) con respecto a T3,5 (27,7, 24,5 and 24,2) pero similares a las obtenidas en T10.5 (30,6, 26,2 y 26,0). La producción de proteína total incrementó linealmente ($P < 0,01$) con el nivel de suplementación desde 0,82 hasta 0,92 kg vaca⁻¹ día⁻¹, sin efectos sobre la producción de grasa. Las concentraciones (g 100 g⁻¹) de grasa butirosa (3,19), proteína total (2,97), sólidos totales (11,75), sólidos no grasos (8,60) y caseína (2,40) no difirieron. El contenido de lactosa (g 100 g⁻¹) incrementó linealmente ($P < 0,02$) desde 4,91 hasta 4,98, mientras que el contenido de urea en leche disminuyó ($P < 0,01$) desde 0,048 hasta 0,043. Los consumos de MS y energía incrementaron con el nivel de concentrado sin efectos sobre la eficiencia de conversión. Los cambios de peso vivo

(PV) y nota condición corporal (CC), así como las concentraciones plasmáticas de ácidos grasos no esterificados (AGNE), glucosa, insulina, somatotropina (GH) y somatomedina C (IGF-I) no fueron afectadas. Los niveles de urea plasmática resultaron menores ($P < 0,05$) en T10.5. El pH ruminal y la concentración de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) resultaron menores ($P < 0,05$) en T10.5 con respecto a T3.5. La concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) totales resultó mayor ($P < 0,05$) en T3.5 debido al incremento en las concentraciones de acetato y butirato, mientras que la relación acetato:propionato permaneció sin cambios. La digestión ruminal de la fibra detergente neutro (FDN) de la pastura fue afectada a medida que el consumo de concentrado incrementó, sugiriendo la existencia de efectos asociativos negativos en el rumen. Si el objetivo es incrementar la producción de proteína láctea o reducir los excesos de amoníaco ruminal y de urea en leche, suplementaciones del orden del 41% del consumo de MS total con un concentrado energético resultarían una herramienta efectiva. En el **Experimento 2**, las producciones (kg vaca⁻¹ día⁻¹) de leche corregida al 4% de grasa (LGC 4%) y leche corregida por energía (LEC) resultaron mayores ($P < 0,05$) en T7.0 (29,0 y 29,0) con respecto a T3,5 (26,8 y 26,7) pero similares a las obtenidas en T10.5 (30,2 y 30,2). Las producciones (kg vaca⁻¹ día⁻¹) de leche y proteína total incrementaron linealmente ($P < 0,01$) con el consumo de concentrado. Los contenidos de grasa butirosa (3, 13 g 100 g⁻¹) y sólidos totales (11,79 g 100 g⁻¹) no difirieron entre tratamientos, mientras que los tenores (g 100 g⁻¹) de proteína total y caseína incrementaron linealmente desde 3,05 to 3,10 ($P < 0,03$) y desde 2,42 to 2,47 ($P < 0,01$), respectivamente. El consumo de MS de pastura disminuyó, pero los consumos de MS total y energía aumentaron con el nivel de suplementación sugiriendo efectos de adición ante el aporte de concentrados. La pérdida de peso vivo (PV) y la concentración plasmática de ácidos grasos no esterificados (AGNE) disminuyeron con el consumo de concentrado. Los niveles plasmáticos de somatomedina C (IGF-I) fueron mayores ($P < 0,05$) en T10.5, mientras que los valores circulantes de glucosa, urea, insulina y somatotropina (GH) no fueron afectados. El pH ruminal y la concentración de acetato resultaron menores ($P < 0,05$) en T10.5 con respecto a T3.5. La relación acetato:propionato disminuyó ($P < 0,01$) desde 4,25 hasta 3,08 en T10.5 y los niveles de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) en rumen tendieron ($P < 0,07$) a disminuir a medida que el consumo de concentrado incrementó. Los parámetros asociados a la cinética de digestión ruminal de la FDN de la pastura permanecieron sin cambios. La fracción hipercolesterolémica de la grasa láctea (ácidos

grasos C12:0 to C16:0) permaneció sin cambios a medida que el consumo de concentrado incrementó. El contenido de ácido linolénico en leche disminuyó y la relación n-6:n-3 aumentó con el consumo de concentrado desde 1,56 (T3.5) hasta 2,57 (T10.5) permaneciendo dentro de los valores recomendados para una dieta saludable (< 4:1). El contenido de vitaminas antioxidantes no fue significativamente alterado pese a la caída (-21%) en el consumo de MS de pastura en T10.5 con respecto a T3.5. El consumo creciente de un concentrado almidonoso hasta un 40% del consumo de MS total de vacas en pastoreo mostró efectos aditivos sobre los consumos de MS total y energía incrementando la producción de leche y los contenidos de proteína y caseína sin efectos negativos sobre la producción o concentración de grasa láctea. La digestión ruminal de la FDN de la pastura y los parámetros nutricionales relacionados con el valor saludable de la grasa de la leche no fueron afectados.

Palabras clave: vaca lechera, suplementación energética, producción y composición de leche, digestión ruminal y valor saludable de la leche.

ABSTRACT

The aim of the experiments was to determine the effect of feeding three levels (T3.5, T7.0 and T10.5) of energy concentrate (3.5, 7.0 and 10.5 kg cow⁻¹ day⁻¹) on total dry matter (DM) and energy intakes, milk yield and composition, environment and ruminal digestion and nutritional healthy value of milk in grazing dairy cows. Twelve (Experiment 1) Holstein multiparous cows in early lactation (69.0 ± 5 days postpartum) producing 32.8 (±4.0) kg milk and twenty-one (Experiment 2) Holstein multiparous cows in early lactation (70.2 ± 13 days postpartum) producing 37.1 (±4.7) kg of milk were assigned to three treatments in a 3 × 3 cross-over design. Parameters of ruminal environment and pasture neutral detergent fiber (NDF) degradation were obtained using 3 additional cows of the same breed fitted with rumen cannulae. On a wet basis, concentrate was composed by corn grain (68%), soybean meal (22%), wheat bran (8%) and a vitamin-mineral nucleus with monensin and thoroughly consumed. Pasture (*Medicago sativa*, sp) was used in a rotational grazing system with an herbage allowance of 30 kg DM cow⁻¹ d⁻¹. In **Experiment 1**, yields (kg cow⁻¹ day⁻¹) of milk, 4% fat corrected milk (4% FCM) and energy corrected milk (ECM) resulted higher ($P < 0.05$) in T7.0 (29.6, 26.1 and 25.7) compared to T3.5 (27.7, 24.5 and 24.2) but similar to those obtained in T10.5 (30.6, 26.2 and 26.0). Milk protein yield increased linearly ($P < 0.01$) from 0.82 to 0.92 kg/cow day⁻¹ without effects on yield of milk fat. Concentrations (g 100 g⁻¹) of milk fat (3.19), protein (2.97), total solids (11.75), non-fat solids (8.60) and casein (2.40) did not differ. Milk lactose content (g 100 g⁻¹) was linearly increased ($P < 0.02$) from 4.91 to 4.98 whereas milk urea decreased ($P < 0.01$) from 0.048 to 0.043. Intakes of DM and energy increased with concentrate level without effects on conversion efficiency. Changes in body weight (BW), body condition score (BCS) and concentrations of plasma non-esterified fatty acids (NEFA), glucose, insulin, somatotropin (GH) and insulin-like growth factor (IGF-I) were not affected. Plasma urea levels resulted lower ($P < 0.05$) in T10.5. Ruminal pH and ammonia nitrogen (NH₃-N) resulted lower ($P < 0.05$) in T10.5 compared to T3.5. Concentration of total volatile fatty acids (VFA) was higher ($P < 0.05$) in T3.5 due to the increase in acetate and butyrate while the acetate:propionate ratio remained unchanged. Pasture NDF digestion was affected as concentrate intake increased, suggesting the existence of negative associative effects in the rumen. To increase milk protein yield and reduce concentrations of N-NH₃ in rumen and milk, feeding an energy concentrate at 41% of total DM intake resulted an effective tool. In **Experiment 2**, yields (kg cow⁻¹ d⁻¹) of 4% fat

corrected milk (4% FCM) and energy corrected milk (ECM) resulted higher ($P < 0.05$) in T7.0 (29.0 and 29.0) compared to T3.5 (26.8 and 26.7) but similar to T10.5 (30.2 and 30.2). Milk and protein yields ($\text{kg cow}^{-1} \text{d}^{-1}$) were linearly increased ($P < 0.01$) by concentrate intake. Milk fat ($3.13 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) and total solid contents ($11.79 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) did not differ whereas milk protein and casein levels ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) increased linearly from 3.05 to 3.10 ($P < 0.03$) and from 2.42 to 2.47 ($P < 0.01$), respectively. Pasture intake decreased but total DM and energy consumption were enhanced showing addition effects after concentrate feeding. Body weight (BW) loss and plasmatic levels of non-esterified fatty acids (NEFA) decreased with concentrate intake. Circulating levels of insulin-like growth factor (IGF-I) were higher ($P < 0.05$) in T10.5 while those of glucose, urea, insulin and somatotropin (GH) were not affected. Ruminal pH and acetate concentration resulted lower ($P < 0.05$) in T10.5 when compared to T3.5. The acetate:propionate ratio decreased ($P < 0.01$) from 4.25 in T3.5 to 3.08 in T10.5 and ruminal ammonia nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) levels tended ($P < 0.07$) to be lower as concentrate intake increased. Kinetics parameters of pasture NDF degradation remained unchanged. The potential hypercholesterolemic fatty acids (FA) of milk (C12:0 to C16:0) remained unchanged as concentrate intake increased. Milk content of linolenic acid decreased and the n-6:n-3 ratio increased with concentrate intake from 1.56 (T3.5) to 2.57 (T10.5) remaining below the recommended values for human health ($< 4:1$). Milk content of antioxidant vitamins was not significantly altered even when pasture DM intake fall (-21%) in T10.5 compared to T3.5. Increased consumption of a starch-rich concentrate up to 40% of DM intake of cows showed additive effects on total DM and energy intakes improving milk yield, milk protein and casein contents without negative effects on milk fat concentration or yield. Pasture fiber digestion and nutritional parameters linked to healthy value of milk fat were not affected.

Keywords: dairy cow, energy supplementation, milk yield and composition, ruminal digestion, nutritional healthy value of milk.

2.1. INTRODUCCIÓN

La gran variabilidad en los precios de las materias primas y las preocupaciones sobre el bienestar animal percibidas en torno al confinamiento permanente del ganado han llevado a un renovado interés mundial en los sistemas pastoriles de producción de leche (Hills *et al.*, 2015). Las pasturas de alta calidad son el alimento más económico para el ganado lechero y contribuyen a reducir el costo de producción de leche (Dillon *et al.*, 2008), pero su concentración energética resulta insuficiente para que las vacas de alto mérito genético expresen su máximo potencial de producción (Kolver, 2003). El menor consumo de MS y de energía explicaría las producciones subóptimas observadas aún en condiciones de adecuada cantidad y calidad de pastura (Kolver y Muller, 1998; Reis y Combs, 2000; Bargo *et al.*, 2002b).

Maximizar el consumo de pastura implica ofrecer altas cantidades (60 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹) de forraje, llevando a una baja eficiencia de cosecha y a un deterioro progresivo en la calidad de la pastura (Peyraud y Delaby, 2005). En condiciones de pastoreo primaveral y oferta no limitante de forraje, Peyraud *et al.* (1996) informaron consumos máximos de MS equivalentes al 3,2% del PV, mientras que el consumo potencial de vacas suplementadas con concentrados está próximo al 4% del PV (Muller y Fales, 1998). La producción máxima obtenible sobre pasturas de alta calidad en primavera parecería situarse en alrededor de 23,2 kg leche vaca⁻¹ día⁻¹ (Delaby y Peyraud, 1997) y para una mayor producción de leche es necesaria la movilización de energía endógena, aumentando el riesgo de trastornos metabólicos y reproductivos (Gagliostro y Chilliard, 1992). En este contexto, la suplementación energética puede mejorar la respuesta productiva (Bargo *et al.*, 2003) y reducir las pérdidas de reservas corporales (Delaby y Peyraud, 2003).

A su vez, los desbalances energía/proteína en las dietas basadas en pasturas pueden atenuarse por el aumento en el consumo de concentrados ricos en almidón (Reis y Combs, 2000). Sin embargo, la suplementación con elevados niveles de concentrado a base de cereales en la sala de ordeño puede afectar el pH ruminal y la digestión de la fibra (FDN) de la pastura (Leddin *et al.*, 2010), llevando a reducciones en el consumo de forraje y en el contenido de grasa de la leche.

Diversos estudios han cuantificado los efectos de la suplementación sobre el desempeño de vacas lecheras con un bajo número de niveles de suplementación para estimar la curva de respuesta y con una cantidad de concentrado frecuentemente baja o moderada

comparada con el potencial de producción de las vacas modernas. En este contexto, resulta difícil estimar la correspondiente función de respuesta marginal (kg leche kg MS concentrado adicional⁻¹) (Sairanen, Khalili y Virkajarvi, 2006). En el presente trabajo de Tesis, se decidió trabajar con alimentos pelletizados para favorecer el consumo de concentrado y alcanzar niveles altos de suplementación a fin de estimar una función de dosis-respuesta.

Una característica distintiva de las explotaciones en la principal región lechera de Argentina es que la alimentación se basa principalmente en el pastoreo de alfalfa a lo largo del año, en combinación con ensilaje, heno y concentrados (Baudracco *et al.*, 2011). Sin embargo, estudios previos evaluando los efectos de niveles crecientes de suplementación energética sobre pasturas de alfalfa son escasos en la bibliografía. Existen antecedentes de ensayos similares realizados en la EEA Rafaela del INTA durante los años 1991 y 1992, en los que se utilizó maíz molido como suplemento (Castillo *et al.*, 2001), pero a pesar que se intentó alcanzar niveles altos de suplementación, las vacas sólo llegaron a consumir un máximo de 6,3 kg MS de maíz.

Finalmente, la bibliografía indica que en la medida que decrece la participación de pastura en la ración total consumida por la vaca se afecta el valor saludable de la leche como consecuencia de una disminución en el contenido de ácido ruménico (AR, 9-*cis* 11-*trans* C18:2 CLA), ácido α -linolénico (C18:3n-3) y vitaminas antioxidantes (Elgersma, 2015). Se intentará cuantificar el riesgo en la pérdida de valor funcional de la leche en la medida que se evoluciona hacia alimentación con niveles altos de concentrados energéticos.

2.1.1. HIPÓTESIS

Bajo condiciones de pastoreo primaveral y oferta no limitante de pastura, el consumo de niveles crecientes de concentrado energético:

1. Incrementará la producción de leche y la concentración proteica de la misma sin variaciones en la eficiencia de conversión por efectos de un mayor consumo de materia seca y de energía total y/o mayor sincronía ruminal.
2. No provocará efectos negativos sobre parámetros de ambiente ruminal (pH, concentración de N-NH₃ y de AGV) y la digestión de la fibra en el rumen.

3. Tendrá un impacto positivo sobre metabolitos indicadores de lipomovilización y hormonas antilipolíticas (insulina) o predisponentes a incrementar la producción de leche (somatotropina, somatomedinas).

4. No afectará la composición en ácidos grasos y la concentración de compuestos antioxidantes que determinan el valor saludable de la leche.

2.1.2. OBJETIVOS

Conocer el efecto del suministro de niveles crecientes de concentrado energético a vacas lecheras en primer tercio de lactancia bajo condiciones de pastoreo primaveral sobre:

- Producción y composición química de la leche.
- Consumo de MS y energía.
- Variación de peso vivo (PV) y condición corporal (CC).
- Concentración plasmática de metabolitos y hormonas.
- Parámetros de ambiente ruminal y cinética de digestión ruminal de la pared celular del forraje y del almidón contenido en el concentrado.
- Valor saludable de la leche.

2.2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.2.1. Fisiología de la lactancia temprana.

Durante la lactancia temprana (0 a 100 días), las vacas lecheras de alto potencial de producción presentan un balance energético negativo (BEN) como consecuencia de una capacidad de ingestión limitada y de los elevados requerimientos para producción de leche (Bauman y Currie, 1980). En estas condiciones, la vaca obtendrá la energía extra necesaria movilizandando sus lípidos corporales de reserva lo que representa a su vez una manifestación de su mérito genético para producción de leche (Chilliard, 1987). Dicha movilización es mayor a medida que aumenta el potencial de producción de la vaca y ante una lipomovilización excesiva el riesgo de problemas metabólicos (cetosis, hígado graso) y de problemas reproductivos aumenta (Gagliostro y Chilliard, 1992).

Para la obtención de energía a partir de la oxidación de compuestos carbonados a través del ciclo de Krebs, se necesitan moléculas de acetil-coenzima-A y de oxalacetato en una proporción de 1:1 para la formación de citrato (Van Knegsel *et al.*, 2005). Parte del efecto metabólico del BEN en lactancia temprana es un desbalance en la disponibilidad de compuestos glucogénicos (C3) y lipogénicos (C2) derivados de nutrientes y reservas corporales (Figura 1). Este desbalance es inducido por un exceso de nutrientes C2 (estimulado por la movilización de grasa corporal) que no pueden ser oxidados completamente como resultado de una deficiencia en nutrientes C3, ya que gran parte de la glucosa es capturada por la glándula mamaria (van Knegsel *et al.*, 2007).

La relación entre compuestos C2:C3 puede ser manipulada a través de los ingredientes de la dieta. En tal sentido, ingredientes lipogénicos, tales como los forrajes que estimulan la producción ruminal de acetato y butirato, aumentan la relación C2:C3. Por el contrario, a medida que la proporción de granos de cereales aumenta en la ración, también aumenta la producción y absorción de los llamados precursores glucogénicos, como el ácido propiónico en el rumen y la glucosa en el intestino, disminuyendo la relación C2:C3 (van Knegsel *et al.*, 2005).

Por lo tanto, las fuentes de energía de la dieta pueden alterar el balance entre nutrientes C2:C3 y modificar la concentración plasmática de ácidos grasos no esterificados (AGNE), β -hidroxibutirato y glucosa. El incremento en el consumo de precursores glucogénicos aumenta las concentraciones de glucosa e insulina en plasma y disminuye las de AGNE y

β -hidroxibutirato (Figura 1). Hurtaud, Lemosquet y Rulquin (2000) reportaron que al infundir niveles crecientes de almidón en el intestino de vacas lecheras aumentó la concentración de glucosa e insulina y disminuyó la de β -hidroxibutirato, acetato y AGNE. Un perfil nutricional que genere un plano hormonal de este tipo puede tener efectos positivos al disminuir la severidad de enfermedades metabólicas como la cetosis e hígado graso, mejorar el desempeño reproductivo y alterar la producción y composición de la leche.

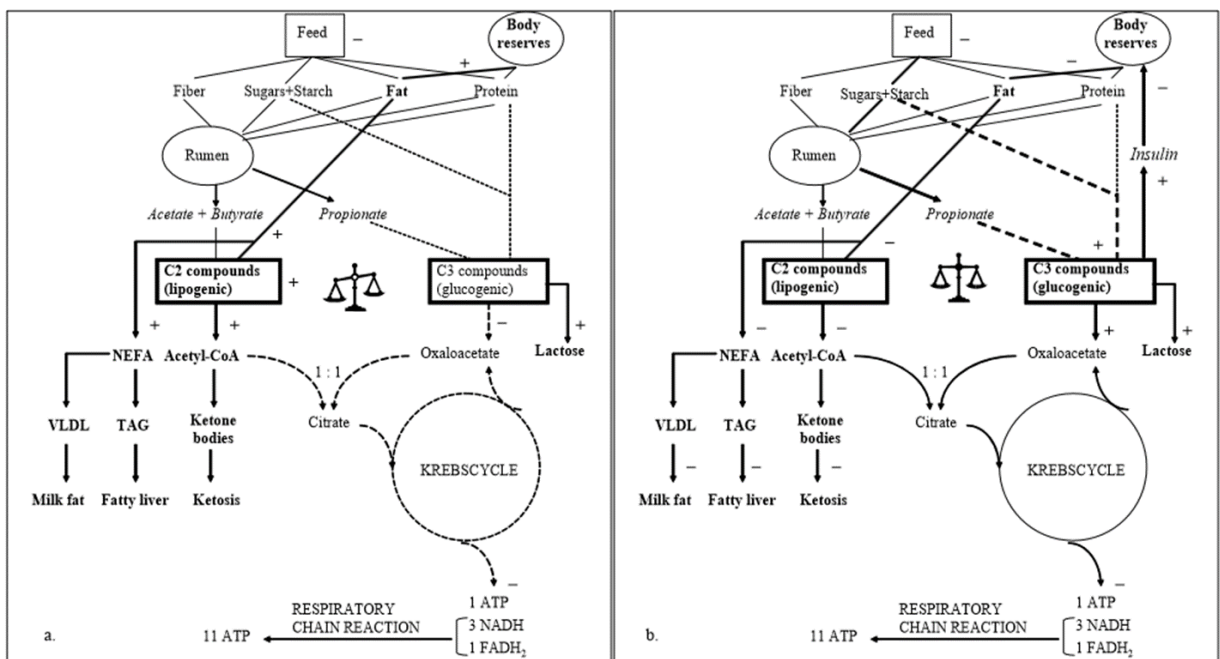


Figura 1: Metabolismo energético de vacas lactantes en balance energético negativo (a); Metabolismo energético de vacas lactantes en balance energético negativo alimentadas con una dieta básicamente glucogénica (b). Van Knegsel, 2007.

2.2.2. Efecto del tipo de dieta sobre la producción y composición de la leche.

Aparte del agua, los nutrientes requeridos por la glándula mamaria para la síntesis de leche son la glucosa, los aminoácidos, el acetato, el β -hidroxibutirato y los ácidos grasos de cadena larga (Bines y Hart, 1982). Estos últimos pueden ser absorbidos directamente del intestino como ácidos grasos preformados provenientes de la dieta o de la movilización de reservas corporales. El acetato y los aminoácidos son absorbidos directamente del tracto digestivo mientras que el β -hidroxibutirato se genera en las paredes del rumen a partir del butirato. Debido a que la mayor parte de los carbohidratos de la dieta son fermentados y reducidos a ácidos grasos volátiles (AGV) en el rumen, el requerimiento de glucosa es

abastecido fundamentalmente por la gluconeogénesis hepática a partir del propionato, siendo éste un proceso crítico para la producción de leche. Durante la lactancia, la glándula mamaria utiliza entre el 60 y el 85% de la glucosa disponible y la misma es utilizada en un 50-85% para la producción de lactosa (Knowlton *et al.* 1998), lo que representa una considerable carga metabólica para los rumiantes. En menor medida la glucosa es también utilizada para la producción de glicerol y la obtención de equivalentes reductores bajo la forma de NADP para la lipogénesis (Bines y Hart, 1982). Según Huntington y Richards (2005) una vaca lechera que produce 44 litros de leche día⁻¹ tiene una tasa de pérdida irreversible de glucosa del orden de 2,73 kg día⁻¹, más del doble que la de un novillo de 400 kg de peso vivo que gana 1,6 kg día⁻¹.

La manipulación de la dieta de la vaca lechera puede generar distintos patrones de utilización de los nutrientes a igual consumo de energía digestible (Sutton, 1985). Flatt *et al.* (1969), citado por Sutton (1985), suministraron a vacas lecheras distintas combinaciones de heno de alfalfa y concentrado a base de maíz (60:40, 40:60 y 20:80, respectivamente) manteniendo constante el consumo de energía digestible. La producción de leche no fue afectada por los tratamientos, pero a medida que aumentó la proporción de concentrado se redujo la concentración y producción de grasa. Mientras que Broster *et al.* (1985), citado por Sutton (1985), trabajando con heno y concentrado a base de cebada en proporciones 60:40 y 10:90, respectivamente, encontraron una reducción similar en la producción de grasa, pero la producción de leche aumentó 25-35%.

La energía es el primer nutriente en limitar la producción de leche de vacas de alto potencial cuando consumen pasturas de alta calidad como único alimento (Kolver y Muller, 1998). La suplementación con concentrados energéticos es una práctica que en general permite superar las limitantes al consumo total de energía y/o mejorar el balance de nutrientes (Bargo *et al.*, 2003). Las mejoras productivas derivadas de la suplementación con concentrados se deben en gran parte al aumento en el consumo de energía digestible, pero podría haber además una mayor eficiencia de uso de la misma para producción de leche con el incremento en la disponibilidad de precursores glucogénicos.

La mayor eficiencia en el uso de la energía digestible con una mayor proporción de concentrados en la dieta está dada principalmente por menores pérdidas en forma de metano, las cuales pueden representar un 3-10% de la energía digestible (Beever, 1993). La producción de metano es una de las vías utilizadas por el sistema ruminal para

desprenderse de iones H⁺ producidos durante la fermentación de las hexosas a piruvato y el posterior pasaje del mismo a AGV, con excepción del ácido propiónico (Beever, 1993). La pérdida de energía en forma de metano es menor cuanto mayor es la proporción de ácido propiónico en el total de AGV producidos en el rumen. El ácido acético es el principal producto derivado de la fermentación ruminal de los carbohidratos, pero a mayor contenido de carbohidratos no estructurales en la dieta mayor es la proporción molar de ácido propiónico. En los trabajos revisados por Sutton (1985), la proporción molar de propiónico se ubicó en un rango de 17 a 30 mol 100 mol AGV⁻¹ para dietas normales (35 a 55% de forraje) y de 31 a 47 mol 100 mol AGV⁻¹ para dietas bajas en fibra (8 a 13% de forraje). Por otro lado, parte del almidón contenido en los granos de cereales (maíz, sorgo y arroz) escapan a la fermentación ruminal y son hidrolizados y absorbidos en el intestino delgado bajo la forma de glucosa.

La digestión intestinal del almidón es teóricamente una vía más eficiente de utilización de la glucosa con respecto a la fermentación ruminal del mismo y posterior gluconeogénesis en hígado a partir del propionato generado (Knowlton *et al.* 1998). El almidón digerido en el intestino delgado provee un 42% más de energía que el almidón digerido en el rumen (Owens *et al.*, 1986). Sin embargo, una reducción de la digestión ruminal del almidón restringe la cantidad de energía disponible para los microorganismos ruminales y puede disminuir el aporte de proteína microbiana disponible para el animal.

A diferencia de la energía digestible, el rango de eficiencia aparente de utilización de la energía metabolizable (EM) es bastante reducido (Moe, Flatt y Tyrrel, 1972). Kronfeld (1976) sugirió que para que la eficiencia de uso de la EM para lactación sea óptima la provisión de nutrientes a la glándula mamaria debería tener determinadas proporciones de aminoácidos (AA), acetato, 3hidroxibutirato, glucosa y ácidos grasos de cadena larga. Este autor calculó las eficiencias teóricas de síntesis de cada componente de la leche a partir de los productos de la digestión de dietas mixtas (78, 84 y 71% para lactosa, proteína y triacilglicéridos, respectivamente) y reportó una eficiencia teórica de 76% para la síntesis de leche. En condiciones experimentales se registraron eficiencias de uso de la EM para lactación de 61 a 64% para concentraciones de EM del alimento de 2 a 3 Mcal kg MS⁻¹ (Moe *et al.* 1972). Por lo tanto, la variación en la eficiencia de uso de la EM para lactación es sustancialmente menor a la variación en la eficiencia de uso de la energía digestible. Esto es cierto para valores de EM efectivamente medidos y no calculados, ya que la EM no es

una proporción constante de la energía digestible y varía con el nivel de consumo y la nutrición proteica del animal (Moe *et al.* 1972).

La composición de la leche puede modificarse de tres formas: la nutrición, la genética y la transformación industrial (Walker *et al.* 2004). La nutrición es la vía más rápida disponible para el productor para satisfacer las demandas cambiantes que exigen los mercados. Los mayores cambios pueden lograrse en la concentración y composición de la GB a través de modificaciones en el consumo de fibra, en la relación forraje:concentrado, en la composición de los carbohidratos de los concentrados, en los lípidos de la dieta, en el nivel de consumo y en la frecuencia de alimentación (Sutton, 1989). La magnitud de los cambios factibles en el tenor proteico de la leche es mucho menor y a nivel del contenido de lactosa, los cambios son muy pequeños e inconsistentes, con lo cual no tienen demasiado valor práctico. La lactosa, principal componente osmóticamente activo de la leche, es sintetizada en el aparato de Golgi y luego secretada al lumen alveolar en vesículas. Las proteínas y los triglicéridos de la leche son sintetizados en el retículo endoplasmático de las células alveolares. Luego, las proteínas pasan por el aparato de Golgi y son secretadas en las mismas vesículas que la lactosa. Las micelas de grasa, en cambio, son secretadas al lumen alveolar en forma de glóbulos de grasa. Así, la ruta secretora de la lactosa y las proteínas es la misma. Esta ha sido propuesta como una de las principales razones por la que la relación proteína:lactosa de la leche se mantiene estable, mientras que la relación grasa:lactosa varía ampliamente (Sutton, 1989). La baja eficiencia de conversión del nitrógeno dietario en proteínas a nivel de la glándula mamaria, que sería del orden del 25-30%, también contribuiría a explicar la estabilidad en la concentración proteica de la leche.

Aumentar el consumo de energía es el medio más seguro para incrementar el contenido proteico de la leche (Sutton, 1989). Este incremento estaría explicado por un aumento en la producción de proteína microbiana (Kellaway y Harrington, 2004) y en la proporción de propionato disponible para la síntesis de glucosa, ahorrando aminoácidos para la síntesis de proteína láctea (Clark, 1975). Se reportaron respuestas del orden de 0,015-0,020% proteína/Mcal EN_L consumida (Sutton, 1989). El efecto puede ser mayor cuando las vacas están inicialmente subalimentadas o menor cuando la concentración proteica de las dietas es lo suficientemente baja como para limitar el consumo de proteína metabolizable (Walker *et al.* 2004).

Con respecto a la relación forraje:concentrado de la dieta, su efecto sobre el contenido de proteína es inconsistente, pero la reducción de la misma generalmente provoca una caída en la concentración grasa de la leche. Se ha sugerido que el contenido de GB es bastante estable mientras que la proporción de forraje en la dieta (en base seca) sea superior al 50% (Sutton, 1989). Por debajo de este valor se producen disminuciones variables en la concentración de GB. De los diversos factores que contribuyen a esta variación, la fuente de carbohidratos en los concentrados es probablemente la más importante. Cuando los concentrados se basan en cebada arrollada o molida o en maíz en copos, la caída es rápida y a menudo severa, resultando en tenores de GB inferiores al 2,0% en casos extremos y un mínimo de 22% de FDA en la dieta ha sido sugerido para prevenir reducciones en la concentración de grasa láctea (Sutton, 1989).

2.2.3. Importancia de los precursores glucogénicos en la producción y composición de la leche.

La producción de leche y sólidos es altamente dependiente del consumo total de energía y de la naturaleza de la energía consumida a través de los productos finales de la digestión. Para una adecuada eficiencia de conversión a sólidos, una importante cantidad de energía debe ser aportada bajo la forma de precursores glucogénicos (PG). Los mismos están representados por el ácido propiónico (C_3 , precursor para la síntesis de glucosa) y la glucosa disponible a nivel duodenal.

Todo aumento en la disponibilidad de los PG y fundamentalmente de la glucosa resulta clave para maximizar la concentración proteica de la leche y la síntesis de lactosa (Rigout, Lemosquet, van Eys *et al.*, 2002; Rigout *et al.*, 2003; Lemosquet *et al.*, 2004). Un mayor ingreso de lactosa al lumen del alvéolo mamario induce un aumento del transporte de agua a la glándula y por lo tanto del volumen de leche producida. Los mecanismos a través de los cuales el contenido proteico de la leche aumenta con el nivel de glucosa disponible no son bien conocidos. La explicación clásica se relaciona con el ahorro de AA glucogénicos (Clark, 1975).

En condiciones no pastoriles de alimentación, los intentos por definir el nivel de glucosa disponible a nivel intestinal capaz de maximizar la síntesis de leche (y secreción de proteína) han dado resultados variables. En un análisis global de resultados obtenidos en condiciones de alimentación controlada donde la cantidad total de energía ingerida fue

mantenida constante a través de infusiones de nutrientes, trabajando con ensilaje de pastura como forraje de base, Rigout *et al.* (2003) informaron incrementos curvilíneos en la producción de leche, incrementos lineales en la concentración proteica de la leche (+0,04%) y decrementos curvilíneos en la concentración grasa de la leche (-0,14%) por cada Mcal extra de energía absorbida bajo la forma de PG (energía glucogénica, EG) en un rango de 4 a 12 Mcal día⁻¹. El análisis realizado sugiere que la máxima respuesta en producción de leche se obtendría cuando la absorción intestinal de EG es del orden de 8-10 Mcal EN_L día⁻¹, para un consumo total de EN_L cercano a los 30-32 Mcal vaca⁻¹ día⁻¹. En consecuencia, la proporción óptima de EG estaría en el rango de 25-30% de la EN_L total consumida. A su vez, ello equivaldría a 1,63 y 2,04 kg de glucosa absorbida si se asume que 1 kg de glucosa aporta 4,91 Mcal de EM (Armstrong y Blaxter, 1961). Para un maíz con 87% de MS, 73,5% de almidón, una degradabilidad efectiva de 50% (Rémond y otros, 2004) y una digestibilidad intestinal de 78% (Huntington, 1997), la dosis de grano capaz de maximizar la producción de leche estaría comprendida entre 6,56 y 8,20 kg día⁻¹.

Cuando la absorción total de energía se mantuvo estable, el suministro de dosis crecientes de glucosa en el intestino de vacas lecheras consumiendo raciones basadas en ensilaje de pastura también incrementó en forma curvilínea la producción de leche (Hurtaud *et al.*, 2000) obteniéndose una producción máxima cuando la glucosa representó de un 6-8% del consumo de materia seca (de 1 a 1,4 kg de glucosa vaca⁻¹ día⁻¹, equivalente a 5,4 ó 7,6 kg de grano). Con dietas basadas en ensilaje de maíz, no hubo efectos de la infusión de glucosa a nivel intestinal (Hurtaud, Rulquin y Verite, 1998). Con este tipo de dietas, por lo menos un 30 % del almidón ingerido no es degradado en el rumen, resultando en un flujo postruminal de almidón de 1,5 a 2 Kg/d. Esta cantidad de almidón podría ser suficiente para asegurar una máxima producción de leche.

En raciones a base de ensilaje de pastura, Rigout, Lemosquet, van Eys *et al.* (2002) informaron que la absorción duodenal de glucosa (de 0 a 2,4 kg/vaca/día ó 0 a 9,8 kg de grano) incrementó la disponibilidad de glucosa, su utilización a nivel mamario y la síntesis de leche. El aumento en la tasa de aparición de la glucosa parece ser un factor clave para favorecer la captura mamaria de glucosa y la producción de leche (Rigout, Lemosquet, Bach *et al.*, 2002). Sin embargo, por encima de 1 kg de glucosa infundida en duodeno no hubo respuestas en producción de leche, sugiriendo que la provisión de glucosa en exceso puede tener efectos negativos en la producción de leche al disminuir la gluconeogénesis en hígado

y la generación de glucosa-1-P. La gluconeogénesis hepática disminuye en respuesta a un aumento en la absorción de glucosa (Knowlton et al. 1998), aparentemente debido a un aumento en la secreción de insulina.

La comparación de infusiones isoenergéticas ruminales de C₃ o duodenales de glucosa demostró que sólo la glucosa resultó efectiva para aumentar la tasa de aparición de este metabolito clave para producción de leche (Lemosquet *et al.*, 2004). La disponibilidad creciente de PG incrementa a su vez las concentraciones plasmáticas de somatomedinas (IGF-1) hormona importante en la regulación de la captura y utilización mamaria de la glucosa y de los aminoácidos necesarios para síntesis de proteína (Lemosquet *et al.*, 2004).

Otros trabajos con raciones a base de ensilaje de pastura (forraje pobre en PG), informaron que el aporte de glucosa a nivel duodenal resultó efectivo para incrementar la cantidad de leche producida (Huhtanen, Blauwiel y Saastamoinen, 1998; Hurtaud *et al.*, 2000).

En condiciones de alimentación base pastoril, la cantidad de PG disponibles puede constituir un factor limitante sobre todo en pastoreos de otoño-invierno de gramíneas o en praderas con predominancia de alfalfa durante todo el año. Los antecedentes descritos demuestran que resulta posible manipular la cantidad y composición de sólidos útiles a través de la suplementación energética de la vaca, pero las leyes de respuesta al aporte creciente de PG no son bien conocidas ni con la utilización de forrajes conservados ni en condiciones de alimentación pastoril.

2.2.4. Suplementación de vacas lecheras en pastoreo con concentrados energéticos.

2.2.4.1. Efectos sobre el consumo de materia seca, la producción y composición de la leche.

Alcanzar elevados niveles de consumo en pastoreo resulta difícil debido a las limitantes espaciales y físicas que puede imponer la pastura (Doyle *et al.* 2000, en Stockdale, 2004). El consumo de pastura puede maximizarse ofreciendo elevadas cantidades de forraje (del orden de los 60 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹) para facilitar la cosecha y la selección, pero esto conduciría a una baja eficiencia de cosecha y a un deterioro progresivo en la calidad de la pastura (Peyraud y Delaby, 2005). Por lo tanto, las limitantes impuestas en la aprehensión y procesamiento del forraje fresco restringen el consumo por debajo del potencial productivo

de la vaca lechera moderna (Doyle, Francis y Stockdale, 2005). Leaver (1985) sugirió que vacas de alto potencial de producción consumiendo pastura a voluntad podrían alcanzar consumos máximos de MS equivalentes al 3,25% del PV. A su vez, Kolver y Muller (1998) reportaron que vacas de alto mérito genético consumiendo pasturas de alta calidad en primavera no pudieron alcanzar el consumo potencial observado con TMR (3,39 vs. 3,93% del PV).

La suplementación con concentrados energéticos (como los granos de cereales) es una práctica que en general permite aumentar el consumo de MS y energía y puede mejorar el balance de nutrientes cuando la calidad del forraje no es óptima (Bargo *et al.*, 2003). Un incremento de la digestibilidad total es esperable con la inclusión de concentrados en las dietas ya que normalmente su digestibilidad es mayor que la de la pastura. No obstante, la respuesta productiva de vacas consumiendo suplementos de alta energía basados en granos de cereales declina a medida que la concentración de EM de la pastura aumenta (Stockdale, 1999).

Por otro lado, la inclusión de suplementos en la dieta de vacas lecheras generalmente deprime el consumo de MS de pastura. Este fenómeno se denomina sustitución y es uno de los principales factores que afectan la respuesta productiva a la suplementación (Stockdale, 2000). La tasa de sustitución (TS) se calcula como: $TS \text{ (kg kg}^{-1}\text{)} = (\text{consumo de MS de pastura en el tratamiento no suplementado} - \text{consumo de MS de pastura en el tratamiento suplementado}) / \text{consumo de MS del suplemento}$. Si la $TS < 1$, significa que el consumo de MS total en el tratamiento suplementado es mayor que en el no suplementado. Si la $TS = 1$, el consumo total de MS es igual en ambos tratamientos.

La TS es variable y muy difícil de predecir, pero en general a mayor consumo de MS de pastura de los animales no suplementados, mayor TS. Stockdale (2000) encontró una relación lineal positiva entre el consumo de MS de pastura y la TS. El consumo en pastoreo es altamente dependiente de la cantidad y calidad del forraje ofrecido (Holmes, 1987), por lo que estas variables inciden fuertemente en la TS. Una reducción en la cantidad de pastura ofrecida llevará a una disminución en la TS y a un aumento en el consumo de MS y energía (Leaver, 1986). Meijs y Hoekstra (1984) registraron el consumo de MS en vacas lecheras y la TS generada por la suplementación con concentrado a distintos niveles de oferta de pastura. Un incremento en la oferta de pastura estuvo asociado a un aumento en el consumo de MS de pastura y una mayor TS. Con un nivel de oferta restrictivo para el

consumo de pastura ($15 \text{ kg MS vaca}^{-1} \text{ día}^{-1}$) la TS fue baja (0,11) y la inclusión del suplemento incrementó considerablemente el consumo total de MS, mientras que con una oferta de pastura mayor ($25 \text{ kg MS vaca}^{-1} \text{ día}^{-1}$) la TS fue más alta (0,50). Dillon (2006) reportó que la TS puede variar desde 0,0 con alta presión de pastoreo hasta 0,6-0,8 con moderada a baja presión de pastoreo. Este autor sugiere además que con el incremento del mérito genético para producción de leche han disminuido los niveles de sustitución promedio de 0,6 a 0,4 para ensayos anteriores y posteriores a 1990, respectivamente.

Se ha hipotetizado que la TS de forraje por concentrado se produciría por la ocurrencia de efectos asociativos negativos en el rumen de vacas en pastoreo suplementadas con concentrado (Dixon y Stockdale, 1999) o que estaría relacionada con reducciones en el tiempo de pastoreo cuando las vacas son suplementadas (McGilloway y Mayne, 1996). Para probar estas hipótesis, Bargo *et al.* (2002a) evaluaron la digestión ruminal *in situ* de la pastura y el tiempo de pastoreo en vacas lecheras de alta producción pastoreando a bajas y altas asignaciones de forraje ($25 \text{ vs. } 40 \text{ kg MS vaca}^{-1} \text{ día}^{-1}$) suplementadas con un concentrado a base de maíz. La TS fue mayor ($0,55 \text{ vs. } 0,26 \text{ kg MS pastura kg MS concentrado}^{-1}$) en las vacas pastoreando a altas asignaciones diarias y estaría asociada tanto a efectos asociativos negativos en el rumen como a la reducción en el tiempo de pastoreo. El consumo de $8,6 \text{ kg MS día}^{-1}$ de concentrado redujo el pH ruminal, la tasa de degradación de la pastura, la digestibilidad aparente de la fibra y el tiempo de pastoreo en ambos tratamientos suplementados.

La respuesta en producción de leche a la suplementación ($\text{kg leche kg MS suplemento}^{-1}$) puede dividirse en respuesta inmediata, acumulativa y residual (Broster y Broster, 1984). La respuesta inmediata o marginal es aquella que se manifiesta en el corto plazo luego de implementada la suplementación y es el resultado del total de nutrientes absorbidos y de la partición de los mismos entre producción de leche y ganancia de peso. La respuesta acumulativa se manifiesta a lo largo de la lactancia siempre que se mantenga la suplementación y se calcula generalmente como la respuesta promedio en un período de tiempo determinado (Kellaway y Harrington, 2004). La respuesta residual se expresa como el aumento en la producción luego de interrumpida la suplementación. Tanto la respuesta acumulativa como la residual están moduladas por cambios internos en el animal derivados de la suplementación en lactancia temprana (Kellaway y Harrington, 2004).

La respuesta inmediata a la suplementación de vacas lecheras con concentrados energéticos puede variar entre 0,0 a 1,6 kg leche kg MS suplemento⁻¹ (Stockdale, Callaghan y Trigg, 1987). Peyraud y Delaby (2001) reportaron respuestas de 0,66 y 0,89 kg leche kg MS suplemento⁻¹ para los trabajos publicados antes y después de 1990, respectivamente y atribuyeron esta diferencia a una mejora del mérito genético de las vacas. La mayor respuesta a la suplementación con concentrado en vacas de alto mérito genético podría atribuirse a una mayor partición de nutrientes para producción de leche con respecto a vacas de menor potencial de producción (Dillon, 2006). La respuesta total a lo largo de la lactancia (inmediata y residual) varía de 1,1 - 2,5 kg leche kg MS suplemento⁻¹, dependiendo principalmente de la cantidad y calidad de pasto disponible (Kellaway y Harrington, 2004).

Los resultados descritos en el punto **2.2.3** han sido obtenidos en condiciones de alimentación controlada donde la cantidad total de energía ingerida fue mantenida constante a través de infusiones de nutrientes. En sistemas reales de producción, la sustitución espontánea de pastura por concentrado puede comprometer la cantidad total de energía ingerida por la vaca y con ello hacer variar las respuestas productivas o atenuar el incremento esperable en la concentración proteica de la leche ante aportes crecientes de PG por suplementación.

Bargo *et al.* (2003) en su exhaustiva revisión reportaron que en vacas de alto mérito genético (en primer tercio de lactancia y produciendo más de 28 kg día⁻¹) en condiciones de pastoreo y suplementadas con niveles crecientes de concentrado en un rango de 1,8 a 10 kg MS día⁻¹, la producción de leche incrementó linealmente con una respuesta de 1 kg leche kg MS concentrado⁻¹. Esta respuesta estuvo asociada a un incremento promedio en el consumo total de 3,6 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹. Para prevenir la ocurrencia de casos de acidosis ruminal, los autores recomiendan no superar los 10 kg MS día⁻¹ de suplementación con concentrado o no superar el 50% del consumo MS total. Hasta este límite, la disminución de la respuesta marginal tradicionalmente observada cuando la suplementación es incrementada no ocurrió con vacas de alta producción. Una respuesta similar (0,94 kg leche kg MS concentrado⁻¹) fue reportada por Delaby y Peyraud (2003) en un estudio de 6 años que evaluó la respuesta productiva de vacas lecheras a la suplementación con niveles crecientes de concentrado bajo 2 sistemas de pastoreo contrastantes (severo vs. laxo).

Con respecto al efecto de la suplementación sobre la composición de leche, la inclusión de suplementos energéticos en condiciones pastoriles de alimentación en general aumenta

el contenido proteico de la leche y deprime la concentración de GB. El incremento en el contenido de proteína se debería a un aumento en la proporción de propionato producido en el rumen y a una mayor producción de proteína microbiana (Beever *et al.* (2001), en Kellaway y Harrington (2004)), lo cual resulta en una incrementada disponibilidad de aminoácidos en el intestino delgado. Los aminoácidos absorbidos asociados con la glucosa preformada o neosintetizada a partir del propionato en el hígado representan el sustrato principal para la síntesis de proteína láctea. El decremento en el contenido de GB estaría explicado por una disminución del pH ruminal llevando a una reducción en la digestión de la fibra a medida que aumenta el nivel de suplementación con concentrado (García y Fulkerson, 2005).

La suplementación con concentrado (hasta 10 kg MS día⁻¹), con respecto a dietas basadas en pasturas sin suplementación, deprimió la concentración de grasa en la leche 0,24 unidades porcentuales, sin afectar la producción de grasa láctea y aumentó la concentración y la producción de proteína 0,13 unidades porcentuales y 0,17 kg día⁻¹, respectivamente (Bargo *et al.*, 2003).

Stockdale (1994), en Kellaway y Harrington (2004), revisó 27 experimentos realizados en Australia y concluyó que los suplementos conteniendo almidón, como los granos de cereales, son la mejor forma de mejorar el contenido proteico de la leche. Un aumento promedio en el consumo de energía metabolizable de 4,28 Mcal derivada de suplementos energéticos generó un aumento en el contenido proteico de 1 g kg leche⁻¹ (Kellaway y Harrington, 2004).

La industria valoriza la recepción de una leche más rica en caseínas, ya que el principal destino de la producción de leche nacional está representado por los lácteos concentrados como el queso y la leche en polvo y el parámetro que mayor influencia tiene sobre el rendimiento para la elaboración de quesos es el contenido de caseína de la leche, existiendo una relación directa entre la aptitud tecnológica de la leche y el margen económico por litro elaborado (Taverna, 2005). En condiciones pastoriles de alimentación, el contenido de proteína verdadera aumentó y el de urea disminuyó con consumos crecientes de concentrado energético (Bargo *et al.*, 2002a; Reis y Combs, 2000). El consumo de 8,6 kg MS día⁻¹ de concentrado incrementó el contenido de proteína verdadera y redujo el de nitrógeno ureico en la leche de vacas en pastoreo a dos niveles de asignación de pastura (25 y 40 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹) y los autores atribuyeron este resultado al mayor

consumo de EN_L en las vacas suplementadas (Bargo *et al.*, 2002a). La concentración de nitrógeno ureico en leche disminuyó linealmente con 0, 5 o 10 kg MS día⁻¹ de un concentrado a base de maíz suministrado a vacas lecheras en pastoreo de pasturas mixtas de alfalfa-raigrás (Reis y Combs, 2000). En un análisis global de resultados, Broderick y Clayton (1997) reportaron una relación directa entre las concentraciones de nitrógeno ureico en leche y de amonio ruminal ($r^2 = 0,574$). En concordancia con la disminución del contenido de nitrógeno ureico en leche, en ambos ensayos se detectó una reducción significativa de la concentración de amonio en rumen, sugiriendo que la suplementación mejoró la utilización del nitrógeno de las dietas de los animales suplementados (Bargo *et al.*, 2002a; Reis y Combs, 2000).

2.2.4.2. Efectos sobre el ambiente y la digestión ruminal.

Una disminución en los registros de pH ruminal en vacas en pastoreo resulta un efecto esperable en la medida que se incrementa el consumo de concentrado a base de granos de cereales ricos en almidón. En efecto, algunos estudios reportaron una disminución del pH ruminal cuando la dosis de concentrado energético aumentó de 5 a 10 kg MS día⁻¹ (Sayers, Mayne y Bartram, 2003) o de 0 a 8,6 kg MS día⁻¹ (Bargo *et al.*, 2002a) en vacas lecheras pastoreando gramíneas. Sin embargo, Reis y Combs (2000) informaron que el pH ruminal no fue afectado por la suplementación o la cantidad de concentrado suplementado cuando se lo suministró dos veces por día, concluyendo que las vacas lecheras en pastoreo tienen una buena capacidad buffer a nivel ruminal. Pequeños cambios en el pH ruminal con niveles crecientes de suplementación fueron reportados también en otros estudios (Berzagui, Herbein y Polan, 1996; Van Vuuren, Van der Koelen y Vroons-de Bruin, 1986). La falta de consistencia entre la cantidad de concentrado suplementado y el pH ruminal de vacas lecheras en pastoreo, sugiere que no hay una fuerte relación entre ambas variables. Kolver y deVeth (2002) concluyeron que no se puede utilizar una variable o un grupo de variables de la dieta para predecir de manera confiable el pH ruminal. La interacción entre la cantidad y el tipo de concentrado con que se está suplementando y la calidad de la pastura (contenido de FDN, PB, estado de madurez, etc.) pueden tener un rol muy importante (Bargo *et al.*, 2003).

El pH ruminal de vacas lecheras en pastoreo varía marcadamente durante el día como resultado de los pronunciados patrones de pastoreo, con casi la totalidad del consumo de

MS de pastura alcanzado en 2 grandes sesiones de pastoreo (al amanecer y al atardecer) (Sheahan *et al.*, 2011) y cuando consumen pasturas de alta digestibilidad, el pH ruminal promedio es frecuentemente menor a 6,0 (Wales *et al.*, 2006). La baja concentración de FDN sumado a una alta fermentabilidad de la fibra de las pasturas de alta calidad resulta predisponente a favorecer los bajos valores de pH a nivel ruminal. Van Vuuren *et al.* (1986), trabajando con vacas lecheras en pastoreo de raigrás fertilizado, registraron valores de pH menores a 6 y concluyeron que los mismos se debían a las altas concentraciones de CHNES de las pasturas utilizadas. Cuando estos carbohidratos son fermentados por las bacterias ruminales a una tasa superior a la tasa de absorción de los AGV producidos, la concentración de éstos en el licor ruminal aumentará, provocando la disminución del pH. Algunos investigadores han sugerido que estas condiciones representan acidosis ruminal subclínica (Hills *et al.*, 2015). La magnitud de estas variaciones es mayor cuando las vacas son suplementadas con concentrado dos veces por día durante el ordeño, pudiendo comprometer la digestión de la fibra (Doyle *et al.*, 2005).

De Veth y Kolver (2001) informaron que la digestión ruminal de la fibra de pasturas de buena calidad es óptima a un pH de 6,35 y que la misma resultaría afectada cuando el pH ruminal disminuye por debajo de 5,8. Las bacterias fibrolíticas no mueren a bajos valores de pH ruminal, pero reducen su actividad microbiana y se incrementa su gasto energético de mantenimiento, resultando en un crecimiento más lento (Russell y Wilson, 1996). Por lo tanto, parece razonable que cuanto mayor sea el período de tiempo que el pH ruminal permanece por debajo del óptimo (< 5,8), la reducción en la digestión de la fibra será mayor (Cerrato-Sánchez, Calsamiglia y Ferret, 2007).

Durante la primavera, la pastura cosechada por los animales suele ser baja en fibra y alta en proteína degradable en rumen (PDR). Como resultado, una alta proporción de la proteína del forraje es rápidamente transformada a N-NH₃ por las bacterias ruminales. Esto provoca una excesiva absorción de N-NH₃ a través de las paredes del rumen e incrementa las pérdidas de nitrógeno por orina (Reis y Combs, 2000). La utilización de la PDR proveniente de la pastura puede mejorarse a través de un mayor consumo de concentrados ricos en almidón y azúcares que aportan precursores gluconeogénicos y se ha sugerido que una relación de 25 g N/kg MO fermentada optimizaría la eficiencia de utilización del N-NH₃ en rumen (Van Vuuren, Tamminga y Ketelaar, 1990).

El efecto más consistente de la suplementación energética sobre la fermentación ruminal es una reducción en la concentración de N-NH₃ (Bargo *et al.*, 2003). La reducción en la concentración ruminal de N-NH₃ podría estar asociada a una mayor captura del N-NH₃ por parte de las bacterias ruminales, o a una disminución en el consumo de PB total debido a que los suplementos energéticos tienen un menor contenido de PB que las pasturas. Reis y Combs (2000) reportaron una disminución lineal en la concentración de NH₃-N en rumen (22,4, 17,7 y 8,1 mg dl⁻¹) con niveles crecientes de concentrado energético (0, 5 y 10 kg MS día⁻¹) suministrado a vacas lecheras en pastoreo de pasturas consociadas base alfalfa. Resultados similares fueron reportados por otros autores (Bargo *et al.*, 2002a; Leddin *et al.*, 2010). El consumo de 8,6 kg MS día⁻¹ de concentrado energético redujo significativamente la concentración de NH₃-N (15,3 vs. 8,9 mg dl⁻¹) en vacas de alta producción en pastoreo con respecto al grupo no suplementado (Bargo *et al.*, 2002a). La concentración de NH₃-N en rumen disminuyó linealmente con el suministro de niveles crecientes de trigo aplastado a vacas lecheras consumiendo forraje fresco de trébol persa a voluntad (Leddin *et al.*, 2010).

Kolver y de Veth (2002) reportaron una relación lineal negativa entre pH ruminal y concentración total de AGV basados en 86 medias de tratamientos de una base de datos incluyendo 23 ensayos realizados con vacas lecheras en condiciones de alimentación base pastoril, sin embargo el porcentaje de la variación en la concentración total de AGV explicada por el pH ruminal fue bajo ($R^2 = 0,30$), indicando un pobre valor de predicción. En línea con este resultado, Bargo *et al.* (2003) informaron que de los 10 estudios revisados que reportaron datos de fermentación ruminal, 8 no reportaron efectos de la suplementación sobre la concentración total de AGV, aún con reducciones en el pH ruminal. Sólo en 2 estudios, las reducciones en el pH ruminal con la suplementación estuvieron asociadas con mayores concentraciones totales de AGV (Sayers *et al.*, 2003; Bargo *et al.*, 2002a).

La composición de la dieta puede modificar la población microbiana del rumen y consecuentemente influir sobre la producción de AGV. A su vez, se sabe que los AGV pueden influir en la composición de la leche, i.e., las proporciones molares de acético y butírico están positivamente correlacionadas con la concentración de grasa en la leche. En general, la suplementación con concentrados almidonosos modifica el perfil de AGV producidos en el rumen, al aumentar la producción de propionato y reducir la de acetato, alterando así la relación acetato:propionato (García, Santini y Elizalde, 2000; Bargo *et al.*,

2002a; Sayers *et al.*, 2003; Wales y Doyle, 2003; Leddin *et al.*, 2010). Estos cambios son esperados, ya que el propionato es el principal producto final de la fermentación del almidón.

En resumen, Bargo *et al.* (2003) en su exhaustiva revisión reportaron que incrementando el nivel de suplementación con concentrado energético desde 1,1 hasta 10 kg MS día⁻¹ se redujo ($P < 0,01$) el pH ruminal 0,08 unidades y la concentración de N-NH₃ 6,59 mg dl⁻¹ comparado con dietas exclusivamente pastoriles, sin efectos significativos ($P > 0,13$) sobre la concentración total de AGV.

Cuando se utilizan altos niveles de suplementación con carbohidratos no estructurales en vacas lecheras consumiendo pasturas de alta calidad, el pH ruminal, el patrón diario de concentración de AGV y la digestión de la fibra (FDN) pueden verse alterados a causa de cambios en la fermentación ruminal (Tamminga, 1993). Estos cambios pueden inducir un menor consumo de forraje y una caída en el contenido de la grasa butirosa de la leche.

Comparado con dietas basadas en pasturas sin suplementación, el suministro de 10 kg MS día⁻¹ de un concentrado a base de maíz a vacas lecheras en pastoreo de pasturas mixtas de alfalfa-raigrás, redujo la fracción potencialmente degradable de la MS de la pastura, sin afectar el resto de los parámetros relacionados con la cinética de digestión ruminal de la MS de la pastura (Reis y Combs, 2000). La suplementación con 5 kg MS día⁻¹ de concentrado, en cambio, no afectó ninguna de las variables asociadas a la digestión *in situ* de la pastura (Reis y Combs, 2000). El consumo de 8,6 kg MS día⁻¹ de un concentrado a base de maíz en vacas lecheras en pastoreo redujo la tasa de degradación de la MS (desde 6,8 a 5,4 % hora⁻¹) y de la FDN (desde 5,1 hasta 4,1% hora⁻¹) de la pastura con respecto al grupo de vacas sin suplementar, sin efectos sobre el resto de los parámetros relacionados con la degradabilidad ruminal *in situ* de la pastura (Bargo *et al.*, 2002a).

Bargo *et al.* (2003) en su trabajo de revisión concluyeron que la suplementación con niveles inferiores a los 8 kg MS día⁻¹ de concentrados a base de maíz no afectaría la digestión ruminal *in situ* de la pastura. Por encima de este nivel de suplementación, en cambio, la tasa de degradación de la MS y de la FDN de la pastura resultarían afectadas, indicando la existencia de efectos asociativos negativos en el rumen de las vacas suplementadas (Dixon y Stockdale, 1999).

2.2.4.3. Efectos sobre el valor funcional de la leche.

La composición en AG de la leche es un factor determinante de su calidad nutricional ya que algunos de ellos presentan efectos positivos sobre la salud humana y otros no (Gagliostro, 2004).

Los AG saturados de cadena media (AGS), láurico (C12:0), mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0), son nutricionalmente indeseables porque incrementan el contenido de colesterol de las lipoproteínas de baja densidad, las cuales están asociadas con un incremento del riesgo cardiovascular por afecciones coronarias (Stockdale *et al.*, 2003).

Estudios previos evaluando los efectos de la suplementación con concentrados energéticos sobre la composición en AG de la leche reportaron incrementos en el contenido de los AGS C12:0 a C16:0 (Stockdale *et al.*, 2003; Wijesundera *et al.*, 2003; Bargo *et al.*, 2006). El consumo de 8,6 kg MS día⁻¹ de concentrado incrementó la concentración de los AGS en la leche de vacas en pastoreo y los autores atribuyeron este resultado a las menores relaciones forraje:concentrado y acetato:propionato en rumen en las vacas suplementadas con respecto al grupo control (Bargo *et al.*, 2006). La suplementación con 5 kg MS de un concentrado basado en grano de cebada a vacas lecheras en pastoreo incrementó el contenido de AGS de la leche (Wijesundera *et al.*, 2003), lo cual fue atribuido en parte a la reducción del balance energético negativo en las vacas suplementadas. Palmquist *et al.* (1993) sostienen que en vacas en balance energético negativo la síntesis *de novo* de AG de cadena corta y media en glándula mamaria disminuye, mientras que la movilización de AG del tejido adiposo aumenta.

Existe un interés especial sobre la concentración de los ácidos linoleicos conjugados (CLA) ya que investigaciones en modelos animales han demostrado una gran variedad de efectos benéficos de estos AG sobre la salud humana incluyendo propiedades antiaterogénicas y antiproliferativas (Bauman *et al.*, 2001). La forma biológicamente activa de los CLA estaría representada por el isómero *cis*-9, *trans*-11 CLA (ácido ruménico, AR) que representa entre el 75 al 85% del total de CLA en leche (Bauman *et al.*, 2001). Los CLA representan compuestos intermedios en la hidrogenación ruminal del ácido linoleico (C_{18:2n-6}) a ácido esteárico (C_{18:0}). El ácido *trans*-11 C_{18:1} (ácido vaccénico, AV) resulta un intermediario común en la biohidrogenación del ácido linoleico y del ácido α -linolénico (C_{18:3n-3}). La reducción ruminal del AV a esteárico resulta incompleta y conduce a una acumulación del compuesto. La síntesis endógena de AR en glándula mamaria a partir del

AV por efecto de la enzima delta-9 desaturasa, sería la principal vía de acumulación de AR en leche bovina explicando aproximadamente un 70% de la síntesis del compuesto (Bauman y Griinari, 2001). Una proporción variable de AG poliinsaturados (PUFA, por sus siglas en inglés), desde 2 hasta 20%, es recuperada en la leche como AV. Hay una fuerte relación entre las concentraciones de AR y AV en la leche, siendo la concentración de AV 2 a 2,5 veces superior que la de AR (Elgersma, Tamminga y Ellen, 2006). Dado que el AV puede ser convertido a AR en los tejidos humanos (Salminen *et al.*, 1998) el consumo de AV puede conferir beneficios similares al consumo directo de AR sobre la salud humana.

La suplementación con concentrados energéticos a vacas lecheras en condiciones de pastoreo redujo el contenido de AV y AR en leche con respecto a las vacas no suplementadas (Stockdale *et al.*, 2003; Wijesundera *et al.*, 2003; Bargo *et al.*, 2006). El mayor contenido de AV y AR en la leche de las vacas no suplementadas podría explicarse por un mayor consumo de pastura y subsecuentemente mayor consumo de C18:3 disponible para biohidrogenación a AV en rumen, debido al elevado contenido de C18:3 de la pastura (Bargo *et al.*, 2006). Asimismo, Stockdale *et al.* (2003) sugirieron que la reducción en el contenido de AR se explicaría principalmente por una disminución de la participación de la pastura en las dietas, debido al efecto sustitutivo provocado por el consumo creciente de concentrado. Dhiman, Anand *et al.* (1999) reportaron que a medida que la proporción de pastura disminuyó desde 100 hasta 33% del consumo de MS, el contenido de CLA en leche disminuyó desde 2,21 hasta 0,89 g/100 g. Por su parte, Castillo *et al.* (2006) reportaron una asociación positiva entre la proporción de pastura de alfalfa en la dieta y el contenido de AR y AV en leche.

Hay dos familias principales de PUFA esenciales llamados omega-3 y omega-6. Las fuentes principales de AG omega-6 y omega-3 de la dieta son el ácido linoleico (C_{18:2n-6}) y el ácido α -linolénico (C_{18:3n-3}), respectivamente. El C_{18:3n-3} está relacionado con la función cardioprotectora (Hu, Manson y Willett, 2001) y si bien el C_{18:2n-6} es precursor de moléculas muy importantes, se recomienda una relación n-6:n-3 menor a 4:1 en la dieta. Simopoulos (2004) ha sugerido que relaciones mayores estarían asociadas con el desarrollo de enfermedades tumorales, cardiovasculares, inflamatorias, autoinmunes y neurodegenerativas.

Los animales en pastoreo consumen dietas ricas en C_{18:3n-3}. Los concentrados y forrajes ricos en almidón afectan el tiempo de retención del alimento en el rumen, aumentan el

consumo de $C_{18:2n-6}$ y alteran las rutas normales de biohidrogenación hacia menos $C_{18:3n-3}$ y AR, conduciendo a menores contenidos de estos compuestos en la leche y a un aumento de la relación n-6:n-3 (Elgersma, 2015). Estudios previos evaluando los efectos de la suplementación con concentrados energéticos sobre el contenido de AG omega-3 y omega-6 en leche confirman estos resultados (Wijesundera *et al.*, 2003; Bargo *et al.*, 2006). La sustitución de pastura por concentrado redujo el consumo de $C_{18:3n-3}$ 33 g día^{-1} (desde 162 hasta 129 g día^{-1}), explicando el menor contenido de este AG en la leche de las vacas suplementadas (Bargo *et al.*, 2006). Wijesundera *et al.* (2003) reportaron un incremento en el contenido de $C_{18:2n-6}$ en la leche de vacas en pastoreo suplementadas con 5 kg MS de un concentrado basado en grano de cebada y atribuyeron este resultado a una posible inhibición de la lipólisis ruminal causada por una reducción del pH ruminal en las vacas suplementadas con respecto al grupo control (sin suplementación), lo cual permitiría que el $C_{18:2n-6}$ contenido en los granos de cereales escape de la biohidrogenación ruminal.

2.3. MATERIALES Y MÉTODOS

2.3.1. Lugar experimental y animales.

Los dos ensayos se realizaron durante la primavera en años consecutivos (2008 y 2009) en el Tambo Experimental de la EEA Rafaela del INTA (Lat. 31° 12' S Long. 61° 30' O Alt. 99 m).

Para las mediciones de producción y composición de leche, PV y CC, consumo de MS y concentración plasmática de metabolitos y hormonas se utilizaron 12 (1° ensayo) y 21 (2° ensayo) vacas multíparas de raza Holando Argentino con 69±5 y 70,2±13 días en lactancia; 3,2±1,3 y 3,3±1,7 lactancias; 32,8±4,0 y 37,1±4,7 kg leche; 623,5±44,0 y 593,3±59,9 kg PV; 2,52±0,21 y 2,52±0,24 nota de CC, para el 1° y 2° ensayo, respectivamente. Las mismas fueron estratificadas en grupos homogéneos de acuerdo al nivel de producción, número de lactancias y días de ordeño y asignadas aleatoriamente a 3 tratamientos (4 y 7 vacas/tratamiento, para ensayos 1 y 2, respectivamente) según un diseño crossover con 3 períodos experimentales de 19 días de duración (14 días de acostumbramiento a la dieta y 5 de toma de datos).

Para los estudios de ambiente y cinética de digestión ruminal se utilizaron 3 vacas de la misma raza provistas de fístula ruminal permanente, asignadas a los tratamientos en un diseño crossover con períodos experimentales de 19 días de duración (17 días de acostumbramiento a la dieta y 2 de toma de datos).

Todas las vacas fueron equipadas con transpondedores en el cuello que servían para registrar la producción diaria de leche y asignar concentrado de manera individual en la sala de ordeño (ALPRO versión 6.60/ DeLaval, Tumba, Suecia).

2.3.2. Tratamientos.

Sobre una misma base forrajera constituida por pasturas perennes de alfalfa, se implementaron 3 tratamientos definidos por el nivel de suplementación con un concentrado pelletizado compuesto por 68% de maíz seco molido, 22% de harina de soja, 8% de afrechillo de trigo y núcleo vitamínico-mineral con monensina: **T3.5**, **T7.0** y **T10.5** (3,5; 7,0 y 10,5 kg de concentrado vaca⁻¹ día⁻¹, respectivamente).

La cantidad diaria de concentrado fue suministrada por mitades en comederos individuales durante cada turno de ordeño (4:30 h y 15:30 h), otorgando el tiempo suficiente a las vacas para que consuman la totalidad del mismo.

Se empleó un sistema de pastoreo rotativo en franjas diarias mediante el uso de alambrados eléctricos portátiles. El área de las franjas fue ajustada semanalmente a fin de asegurar una oferta de forraje de al menos 30 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹.

Durante las tres semanas previas al inicio del ensayo todas las vacas fueron sometidas a un período de acostumbramiento a la dieta, consistente en una alimentación estándar con 7,0 kg de concentrado experimental y pastura.

Se realizaron dos ensayos similares con el objetivo de ampliar la información existente y generar una base de datos ampliada para definir en forma más precisa el planteo del experimento cuatro. Adicionalmente, se llevó a cabo un análisis global para integrar los resultados referidos a producción y composición de leche de estos ensayos con los de ensayos comparables realizados en la EEA Balcarce del INTA (4 ensayos en total) a fines de establecer relaciones dosis-respuesta al suministro de concentrado. Dicho análisis se describe en el ítem Integración de resultados del presente manuscrito.

2.3.3. Mediciones.

2.3.3.1. Biomasa de forraje.

Semanalmente se estimó la disponibilidad forrajera (kg MS ha⁻¹) mediante cortes a 4 cm de altura (Comeron y Romero, 2007) con tijera manual en un área delimitada por un marco metálico de 0.125 m², cortando una superficie total de 1 m² en cada muestreo. La muestra, compuesta por 8 submuestras de 0.125 m², fue secada en estufa a 65 °C durante 48 horas para determinar el contenido de MS de la misma. Sobre la base de esta estimación se fijó el área de las franjas diarias asegurando una oferta de forraje de al menos 30 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹.

2.3.3.2. Composición química de los alimentos.

Durante los últimos 5 días de cada período experimental se obtuvieron muestras diarias y representativas del concentrado experimental (100 g aprox.) y también de la pastura (500 g aprox.). Estas últimas se obtuvieron en el horizonte de pastoreo en forma manual

simulando la selectividad de la vaca (hand-plucking) (Meijs, Walters y Keen, 1982). Todas las muestras fueron secadas en estufa con circulación de aire forzado a 65°C hasta peso constante para determinar el contenido de MS y molidas en molino tipo Wiley (malla 1 mm). Luego, dos muestras compuestas (pooles) representativas de cada período experimental fueron ingresadas al laboratorio. Se determinó el contenido de fibra detergente neutro (FDN; Komarek, 1993), fibra detergente ácido (FDA; AOAC, 1990, # 973.18), extracto etéreo (EE; AOAC, 1998, # 920.39), lignina detergente ácido (LDA; AOAC, 1990, # 973.18), nitrógeno total (método Kjeldhal, AOAC, 1998, # 976.05), proteína bruta (PB; nitrógeno total x 6,25), cenizas (AOAC, 1990, # 942.05) y digestibilidad in vitro de la MS (DIVMS; técnica de fermentación en dos etapas de Tilley y Terry, 1963). A las muestras de concentrado se les determinó además el contenido de almidón (MacRae y Armstrong, 1968).

2.3.3.3. Producción y composición de leche.

La producción de leche fue medida en forma individual y diaria por un sistema de medición de leche DeLaval ALPRO (DeLaval Internacional AB, Tumba, Suecia). En 2 de los 5 días correspondientes a la toma de datos de cada período experimental, se colectaron muestras de leche correspondientes a cada turno de ordeño (mañana y tarde) utilizando medidores de leche (DeLaval Internacional AB, Tumba, Suecia), para confeccionar una muestra única individual (pool) por día ponderada por la respectiva producción individual. En cada muestra compuesta se determinó el contenido de grasa butirosa, proteína total, lactosa, sólidos totales (ST) y sólidos no grasos (SNG) por espectrofotometría infrarroja (MilkoScan™ Minor; FOSS Electric, Hilleroed, Denmark), según norma ISO 9622 IDF 141 (2013). La concentración de nitrógeno ureico en leche (NUL, Laboratorio Wiener, Rosario, Argentina) fue determinada manualmente utilizando kits enzimáticos previa refrigeración y centrifugación de la muestra de leche a 3000 rpm. durante 15 minutos (IEC Modelo Centra MP4) y posterior lectura con un espectrofotómetro (Spectronic 20, Milton Roy Company). El contenido de caseína se determinó mediante la fórmula: $6,38 * (N \text{ total} - N \text{ no caseínico})$, previa digestión semi-Micro-Kjeldhal y lectura colorimétrica en autoanalizador de flujo continuo Technicon según Ovejero (1987) y el de proteína verdadera se estimó según el NRC (2001). La producción de leche fue ajustada a un contenido de 4% de grasa (LGC4%) por la fórmula de Gaines y Davidson (1923). La producción de leche corregida por energía (LEC) fue calculada según la fórmula de Tyrrel y Reid (1965).

El último día de cada período experimental se tomaron muestras de leche y un pool por tratamiento se almacenó a -24°C para la posterior determinación de la composición en ácidos grasos (AG) y compuestos antioxidantes. Sobre cada muestra se efectuó una extracción de lípidos según Luna, Juárez y De La Fuente (2005). Se realizó metilación ácida y se inyectaron como tal en un cromatógrafo gaseoso marca Perkin-Elmer, modelo Autosystem XL – R 3.5, con inyector PSS (Programmed Temperature Vaporizer), divisor de flujo y detector de ionización de llama (FID). Los ésteres metílicos de los AG se separaron utilizando una columna capilar CP-Sil 88 (Chrompack) de 100 m x 0,25 mm d.i. Los AG individuales fueron identificados comparando los tiempos de retención relativos con estándares puros (Mix 37 components Accustandard, PUFA-2 Animal Source. Supelco, USA and octadecadienoic acid conjugate N° 05507, Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo., USA). Los resultados analíticos fueron expresados como porcentajes del total de AG. Las vitaminas antioxidantes (alfa-tocoferol, gama tocoferol y beta caroteno) fueron analizadas mediante la extracción con saponificación en hexano y posterior separación y cuantificación usando la metodología HPLC de fase reversa con detección a 445 nm para los carotenos y fluorescencia a 296-330 nm para los tocoferoles (Rossetti *et al.*, 2010). La cuantificación fue en base a curvas de calibración realizadas con estándares comerciales de cada compuesto (Sigma-Aldrich, Argentina).

2.3.3.4. Peso vivo y condición corporal.

Las vacas fueron pesadas individualmente con una balanza electrónica al inicio y final de cada período experimental, luego del ordeño de la mañana e impidiéndoles el acceso al agua. La variación diaria de PV entre dos pesadas sucesivas se calculó como la diferencia entre el peso final menos el peso inicial dividido por la cantidad de días transcurridos.

Junto con la pesada se determinó la nota de condición corporal por dos observadores independientes usando una escala de 5 puntos (1= excesivamente flaca y 5= excesivamente gorda) con incrementos de 0,25 (Wildman *et al.*, 1982) y el valor analizado fue el resultado promedio de ambos evaluadores.

2.3.3.5. Consumo de materia seca y energía.

El consumo diario individual de concentrado se determinó por la diferencia entre lo ofrecido y lo rechazado a lo largo de todo el ensayo.

El consumo individual de pastura se estimó en cada período experimental a partir de la producción de heces de cada animal y de la DIVMS de la pastura. La producción total de heces de cada vaca se determinó a través de un marcador indigestible (LIPE, lignina purificada y enriquecida de *Eucalyptus grandis*). Este marcador es un hidroxifenil propano modificado, que ha demostrado ser un estimador confiable de la producción fecal para distintas especies animales, incluyendo bovinos (Rodríguez, Saliba y Guimarães-Junior, 2007; Santos *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2012; Baudracco *et al.*, 2013; Santana *et al.*, 2015; Dos Santos *et al.*, 2015; Saliba *et al.*, 2015).

Las vacas fueron dosificadas una vez por día (11:30 h) con una cápsula de gelatina conteniendo 500 mg de LIPE durante 7 días consecutivos (desde el día 12 hasta el 18 de cada período experimental), comenzando el Día 1 y finalizando el Día 7, utilizando un lanzabolos. Para asegurarse que las cápsulas no fueran regurgitadas, los animales se observaron individualmente durante 3 minutos después de haber sido dosificados con la cápsula de LIPE y se realizó una inspección cuidadosa del corral durante 20 minutos después de la dosificación. Las concentraciones de LIPE alcanzan el equilibrio en las heces aproximadamente 48 horas después del inicio de la dosificación. Por lo tanto, durante 5 días consecutivos, a partir del Día 4 de dosificación con LIPE hasta el Día 8 (desde el día 15 hasta el 19 de cada período experimental), se recolectaron muestras de heces rectales de cada vaca una vez por día (11:30 h). Todas las muestras fecales fueron procesadas y analizadas individualmente. Cada una de ellas fue pesada y secada inmediatamente después del muestreo hasta peso constante (estufa a 60°C con circulación forzada de aire) para determinar el contenido de MS, luego fue molida en molino tipo Wiley (malla 1mm) y almacenada para su posterior análisis. El contenido de MS fue determinado también usando una estufa a 105°C hasta peso constante. La determinación del contenido de LIPE en las muestras fecales fue realizada en la Facultad de Veterinaria de la Universidad Federal de Minas Gerais (UFMG) mediante espectrofotometría infrarroja (Saliba *et al.*, 2015).

En 11 estudios involucrando distintas especies, los valores de producción fecal estimados por LIPE fueron similares a los obtenidos por colección total de heces, con tasas de recuperación fecal que fueron desde 95,5 a 106,9% (Saliba *et al.*, 2015). Por lo tanto, en el presente estudio se asumió una tasa de recuperación de 100% para LIPE en el cálculo de la producción total de heces.

La producción de heces asociada al concentrado se calculó como el producto de la indigestibilidad del concentrado (1-DIVMS) por el consumo de concentrado. La producción de heces asociada al consumo de pastura se determinó a través de la diferencia entre las heces totales y las heces asociadas al consumo de concentrado. El consumo de pastura se estimó a partir del cociente entre la producción de heces asociada a la pastura y la indigestibilidad (1-DIVMS) de la pastura (Hamilton, Ashes y Carmichael, 1992). El consumo de MS total fue calculado como la suma del consumo de MS de concentrado y de pastura (Salado *et al.*, 2004).

El consumo de energía neta de lactancia (ENL) se calculó en base a las ecuaciones del NRC (2001) y el de energía glucogénica (EG) con las siguientes ecuaciones (Rigout *et al.*, 2003):

$$\text{Consumo EG (Mcal ENL día}^{-1}\text{)} = \text{Consumo EG rumen} + \text{Consumo EG intestino}$$

$$\text{Consumo EG rumen} = (\text{MOF} * 9 * \%C3_{\text{rum}}) * 0,266$$

$$\text{Consumo EG intestino} = (\text{almidón}_{\text{ID}} * \text{dig.}) * 2,75, \text{ donde:}$$

$$\text{almidón}_{\text{ID}} = \text{Consumo concentrado} * \% \text{ almidón} * (1 - \text{Degrad rum}/100)$$

EG rumen= energía glucogénica en rumen, MOF= materia orgánica fermentable en rumen, $\%C3_{\text{rum}}$ = porcentaje de moles de propiónico en los AGV, EG intestino= energía glucogénica en intestino, almidón ID= almidón en intestino delgado, dig= digestibilidad intestinal del almidón, Degrad Rum= degradabilidad ruminal del almidón.

Se consideró una digestibilidad intestinal del almidón pasante del 78% (Huntington, 1997).

2.3.3.6. Concentración plasmática de metabolitos y hormonas.

En el último día de cada período experimental y luego del ordeño de la mañana, se tomaron muestras de sangre por punción de vena coccígea. La sangre fue colectada en tubos conteniendo heparina sódica (5 U/ml). El plasma se obtuvo por centrifugación (2000 x g por 15 min a 4°C) y se almacenó a -24°C hasta los análisis de glucosa (Glicemia enzimática, Laboratorio Wiener, Rosario, Argentina), urea (Uremia, Laboratorio Wiener, Rosario, Argentina), ácidos grasos no esterificados (AGNE) (NEFA, Randox Laboratories

Ltd., UK), insulina, hormona de crecimiento (GH) y somatomedina C o factor de crecimiento tipo insulina (IGF-I) según se describe en Salado *et al.* (2004).

Cabe destacar que aún en el caso de tratarse de un muestreo único y puntual, el parámetro podría ser de utilidad en la medida que se haya alcanzado un estado estable o un efecto estable del tratamiento nutricional impuesto y para ello se utilizan los días de acostumbramiento previos al muestreo.

El objetivo de este tipo de determinaciones es conocer si cada escenario nutricional generado por la alimentación de la vaca modifica la concentración de indicadores de su metabolismo intermedio. Podría hacerse una analogía con los análisis clínicos practicados en medicina humana y los parámetros normalmente evaluados en los tradicionales “chequeos”.

Es bien conocido que en situaciones de sub-alimentación o de variaciones en la calidad y cantidad de la energía absorbida (glucosa, lípidos, aminoácidos, ácidos grasos volátiles, etc.) pueden producir cambios en los metabolitos circulantes (ácidos grasos no esterificados, glucosa, urea plasmática, triacilglicéridos, colesterol) y en las hormonas reguladoras del metabolismo (insulina, somatotropina, somatomedinas, etc.). Dichos cambios pueden contribuir a explicar fenómenos de lipomovilización o de partición diferencial de nutrientes hacia producción de leche o ganancia de peso. Contando con estos parámetros se pueden a su vez establecer correlaciones que contribuyan a explicar las respuestas zootécnicas obtenidas (Gagliostro, 1986; Gagliostro y Cocimano, 1987; Chilliard *et al.*, 1990; Gagliostro, Chilliard y Davicco, 1991; Gagliostro y Chilliard, 1991).

2.3.3.7. Ambiente y digestión ruminal.

Se utilizó la técnica *in situ* (Mehrez y Ørskov, 1977) de las bolsas de dacrón suspendidas en el rumen para el estudio de la tasa y extensión de la degradación de la FDN del forraje y del almidón del concentrado. Al inicio del período de incubación se introdujeron en el saco ventral del rumen de las vacas fistuladas dos bolsas de cada alimento (concentrado y pastura) por horario de muestreo conteniendo 5 gramos MS de muestra. Las bolsas se extrajeron por duplicado para las diferentes horas de incubación (0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 36 y 48 horas). Luego de cada extracción, las bolsitas fueron congeladas (-24°C) hasta el final de cada período. Posteriormente, fueron descongeladas y lavadas exteriormente bajo corriente de agua fría a fin de arrastrar el material contaminante y el soluble. Luego todas

las bolsitas fueron lavadas en lavarropas, secadas en estufa con circulación forzada de aire (60°C durante 48 horas) y pesadas para determinar el contenido de MS del residuo. Sobre el contenido residual de las bolsas de concentrado y de pastura se determinó almidón (MacRae y Armstrong, 1968) y FDN (Komarek, 1993), respectivamente.

Para describir la cinética de desaparición ruminal del almidón del concentrado se utilizó el modelo de Ørskov y McDonald (1979), utilizando la rutina solver de Excel (Fernández, 2004):

$$p = FS + FI (1 - e^{-(kd * t)})$$

Donde: p = degradabilidad potencial (%), FS = fracción soluble (%), FI = fracción insoluble (%), e = base del logaritmo natural, kd = tasa fraccional de digestión (% hora⁻¹) y t = tiempo de incubación (horas).

Como los resultados de degradabilidad obtenidos a partir de la técnica *in situ* podrían no reflejar lo que ocurre en condiciones normales de alimentación si estos valores no son corregidos por la velocidad de pasaje, se estimó la degradabilidad efectiva del almidón, o sea la cantidad de almidón que es degradada cuando el alimento permanece en el rumen un tiempo determinado. La estimación se realizó utilizando la fórmula propuesta por Ørskov y McDonald (1979):

$$E = FS + FI (kd / (kd + kp))$$

Donde: E = degradabilidad efectiva (%), FS = fracción soluble (%), FI = fracción insoluble (%), kd = tasa fraccional de digestión (% hora⁻¹) y kp = tasa de pasaje (% hora⁻¹), asumiendo que esta última es de 5 % hora⁻¹ (Van Vuuren *et al.*, 1992).

Para describir la cinética de desaparición ruminal de la pared celular (PC) o de la FDN del forraje se utilizó el modelo propuesto por Mertens y Loften (1980), utilizando la rutina solver de Excel (Fernández, 2004):

$$Y = FPDPC * e^{-(TFDPC * (t - TRIDPC))} + FIPC$$

Donde: Y = pared celular residual en el tiempo (%), FPDPC = fracción potencialmente digestible de la pared celular (%), e = base del logaritmo natural, TFDPC = tasa fraccional de digestión de la pared celular (% hora⁻¹), t = tiempo de incubación (horas), TRIDPC =

tiempo de retardo en el inicio de la digestión de la pared celular (horas) y FIPC = fracción indigestible de la pared celular (%).

Para representar lo que ocurre en condiciones normales de alimentación se estimó la degradabilidad efectiva de la FDN del forraje mediante la siguiente fórmula (Mertens y Loften, 1980), asumiendo que la $k_p = 5 \text{ \% hora}^{-1}$ (Van Vuuren *et al.*, 1992):

$$E = (FPDPC / 100) * (TFDPC / (TFDPC + k_p)) * e^{-((k_p / 100) * TRIDPC)}$$

Donde: E = degradabilidad efectiva (%), FPDPC = fracción potencialmente digestible de la pared celular (%), TFDPC = tasa fraccional de digestión de la pared celular (\% hora^{-1}), k_p = tasa de pasaje (\% hora^{-1}), e = base del logaritmo natural y TRIDPC = tiempo de retardo en el inicio de la digestión de la pared celular (horas).

En los primeros seis horarios de muestreo se extrajeron 200 ml de licor ruminal (saco ventral) de cada vaca fistulada para mediciones de pH, nitrógeno amoniacal (N-NH₃) y ácidos grasos volátiles (AGV). Sobre estas muestras se midió pH con un medidor digital portátil ORION modelo 250 A, inmediatamente después de extraído el licor ruminal y previo filtrado con tela tipo queso. Cien ml del licor filtrado se trasvasaron a frascos de plástico que contenían 1 ml de ácido sulfúrico concentrado y fueron almacenados a -20°C hasta las determinaciones de N-NH₃ y AGV.

La concentración de N-NH₃ se determinó por titulación con arrastre con vapor, previa alcalinización de las muestras con hidróxido de sodio según se describe en Gaggiotti *et al.* (2007). Para la determinación de AGV, las muestras se purificaron previamente con ácido ortofosfórico (25%) en ácido sulfúrico 0,5 M a razón de 0,5 ml por cada 2 ml de muestra y luego se centrifugaron por 10 min a 5000 g (Friggens *et al.*, 1998). Luego, las muestras fueron inyectadas por un auto-muestreador Robokrom® GC en un Konik 5000B GC equipado con un detector de ionización de llama. Los AGV se separaron en una columna capilar Nukol (30 m x 0,32 mm d.i. x 0,25 μm de espesor; Perkin Elmer - Elite FFAP; Part. N9316354). Las temperaturas del inyector y del detector se mantuvieron a 250°C y la de la columna a 156°C . Se usó hidrógeno (H₂) como gas carrier y el flujo de la columna se mantuvo a una tasa de 2,4 mL/min. Para las curvas de calibración se usó la mezcla de ácidos volátiles Supelco (Cat. No. 46975-U).

2.3.4. Análisis estadísticos.

Los resultados referidos a producción y composición de leche (el promedio de los últimos cinco días de cada período experimental), variación de PV y CC, consumo MS y concentración plasmática de metabolitos y hormonas, como así también los parámetros asociados al estudio de la cinética de digestión ruminal de la MS fueron analizados según un diseño crossover con 3 tratamientos y 3 períodos experimentales, utilizando el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS (2010). El modelo utilizado fue:

$Y_{ijkl} = \mu + T_i + P_j + S_k + V_{l(s)} + E_{ijkl}$, donde: Y_{ijkl} = variable dependiente; μ = media gral. del ensayo; T_i = efecto del i-ésimo tratamiento; P_j = efecto del j-ésimo período; S_k = efecto de la k-ésima secuencia; $V_{l(s)}$ = efecto aleatorio de la l-ésima vaca dentro de la k-ésima secuencia y E_{ijkl} = error residual.

Las variables de ambiente ruminal (pH, N-NH₃ y AGV) incluyeron la Hora como medida repetida. El modelo utilizado fue:

$Y_{ijkl} = \mu + T_i + P_j + S_k + V_{l(s)} + H_{m(i)} + E_{ijkl}$, donde: Y_{ijkl} = variable dependiente; μ = media gral. del ensayo; T_i = efecto del i-ésimo tratamiento; P_j = efecto del j-ésimo período; S_k = efecto de la k-ésima secuencia; $V_{l(s)}$ = efecto aleatorio de la l-ésima vaca dentro de la k-ésima secuencia, $H_{m(i)}$ = efecto de la hora de muestreo dentro del i-ésimo tratamiento y E_{ijkl} = error residual.

Cuando se detectaron efectos significativos ($P < 0,05$) de los tratamientos, las comparaciones entre medias se realizaron mediante el test para medias ajustadas de Tukey-Kramer ($\alpha = 0,05$).

El diseño cruzado utilizado describe experimentos con tratamientos suministrados en secuencia (efecto secuencia) a cada unidad experimental, siendo la principal ventaja el aumento de precisión en las comparaciones de tratamientos (Kuelh, 2001). Una desventaja del diseño cruzado es la posibilidad que un tratamiento suministrado en un período influya en la respuesta del siguiente período (efecto residual). Por este motivo, el diseño empleado en el presente trabajo de tesis está balanceado para los efectos residuales dado que cada tratamiento sigue a cada tratamiento el mismo número de veces. Con esta situación se controlarían dichos efectos. Cabe destacar que el efecto secuencia resultó no significativo para todas las variables estudiadas.

Adicionalmente, se probaron los efectos lineales y/o cuadráticos de los niveles de concentrado mediante contrastes ortogonales ($\alpha = 0,05$).

Se consideró tendencia $0,05 < P < 0,10$.

2.4. RESULTADOS ENSAYO 1

2.4.1. Composición química de los alimentos.

Los valores promedio de composición química de las pasturas y del concentrado utilizados en el ensayo se presentan en el Cuadro 1. La biomasa aérea promedio de las pasturas y la asignación diaria de forraje fueron 2033 ± 131 kg MS ha⁻¹ y $30,6 \pm 1,2$ kg MS vaca⁻¹ día⁻¹, respectivamente.

Cuadro 1: Composición química de los alimentos utilizados¹

| Componentes | Pastura ² | Concentrado |
|----------------|----------------------|-------------|
| MS (%) | 20,3 ± 1,3 | 90,7 ± 1,4 |
| | % de la MS | |
| MO | 89,8 ± 0,9 | 93,8 ± 0,8 |
| DIVMS | 69,6 ± 2,2 | 84,1 ± 1,2 |
| PB | 23,9 ± 1,3 | 18,0 ± 1,3 |
| FDN | 41,5 ± 3,6 | 17,0 ± 1,9 |
| FDA | 25,7 ± 3,6 | 6,1 ± 1,1 |
| LDA | 5,5 ± 0,4 | 0,9 ± 0,4 |
| EE | 2,5 ± 0,3 | 4,5 ± 0,7 |
| Almidón | nd | 45,9 ± 3,4 |

¹Valores expresados a través del promedio ± el desvío estándar. ²Pasturas perennes de alfalfa (*Medicago sativa*). MS = materia seca; MO = materia orgánica; DIVMS = digestibilidad *in vitro* de la MS; PB = proteína bruta; FDN = fibra detergente neutro; FDA = fibra detergente ácido; LDA = lignina detergente ácido; EE = extracto etéreo; nd = no determinado.

Los contenidos de PB, FDN, FDA, LDA y cenizas de las pasturas utilizadas resultaron muy cercanos a los valores promedio informados para pasturas de alfalfa en estado de aprovechamiento óptimo en primavera por el laboratorio de evaluación de calidad de forrajes de la EEA Rafaela del INTA (Gaggiotti, 2008), mientras que los tenores de MS y EE se ubicaron en el límite inferior de los rangos de valores informados por Gaggiotti (2008) para este tipo de pasturas (20 a 27 % y 2,0 a 6,0 % para MS y EE, respectivamente).

2.4.2. Producción y composición de la leche.

La producción de leche, LGC4%, LEC y proteína verdadera en T7.0 resultó significativamente mayor con respecto a T3.5 y similar a la obtenida en T10.5, mientras que

la producción de proteína total aumentó (50 gr/día) con el nivel de suplementación, sin diferencias significativas en la producción de grasa (Cuadro 2).

Cuadro 2: Producción y composición de leche en vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

| Variable | Tratamiento ¹ | | | EEM | P < | | |
|---|--------------------------|--------------------|--------------------|-------|-------------------|----------------|----------------|
| | T3.5 | T7.0 | T10.5 | | Trat ² | L ³ | C ³ |
| Leche, kg vaca ⁻¹ d ⁻¹ | 27,7 ^b | 29,6 ^a | 30,6 ^a | 0,91 | 0,01 | 0,01 | 0,36 |
| LGC 4%, kg vaca ⁻¹ d ⁻¹ | 24,5 ^b | 26,1 ^a | 26,2 ^a | 0,62 | 0,01 | 0,01 | 0,11 |
| LEC, kg vaca ⁻¹ d ⁻¹ | 24,2 ^b | 25,7 ^a | 26,0 ^a | 0,62 | 0,01 | 0,01 | 0,18 |
| Grasa | | | | | | | |
| kg vaca ⁻¹ d ⁻¹ | 0,90 | 0,95 | 0,93 | 0,03 | 0,23 | 0,30 | 0,15 |
| % | 3,26 | 3,25 | 3,05 | 0,11 | 0,14 | 0,08 | 0,33 |
| Proteína total (PT) | | | | | | | |
| kg vaca ⁻¹ d ⁻¹ | 0,82 ^c | 0,87 ^b | 0,92 ^a | 0,03 | 0,01 | 0,01 | 0,86 |
| % | 2,97 | 2,95 | 2,99 | 0,05 | 0,56 | 0,63 | 0,35 |
| Proteína verdadera (PVe) | | | | | | | |
| kg vaca ⁻¹ d ⁻¹ | 0,76 ^b | 0,81 ^a | 0,85 ^a | 0,02 | 0,01 | 0,01 | 0,80 |
| % | 2,76 | 2,74 | 2,77 | 0,04 | 0,58 | 0,61 | 0,36 |
| Lactosa, % | 4,91 ^b | 4,93 ^{ab} | 4,98 ^a | 0,02 | 0,04 | 0,02 | 0,55 |
| ST, % | 11,79 | 11,78 | 11,67 | 0,15 | 0,65 | 0,40 | 0,66 |
| SNG, % | 8,57 | 8,57 | 8,66 | 0,06 | 0,27 | 0,15 | 0,43 |
| GB:PT | 1,09 | 1,10 | 1,02 | 0,03 | 0,07 | | |
| Urea, % | 0,048 ^a | 0,047 ^a | 0,043 ^b | 0,001 | 0,01 | 0,01 | 0,17 |
| Urea:PT | 0,016 ^a | 0,016 ^a | 0,014 ^b | 0,001 | 0,04 | 0,02 | 0,18 |
| Caseína, % | 2,40 | 2,38 | 2,42 | 0,02 | 0,21 | 0,42 | 0,12 |
| Caseína:PT | 0,81 | 0,81 | 0,81 | 0,01 | 0,99 | 0,91 | 0,96 |

^{a,b,c}Medias dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (test Tukey-Kramer, $P < 0,05$). ¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Efecto tratamiento. ³Contrastes: L = lineal y C = cuadrático. LGC 4% = leche grasa corregida al 4%; LEC = leche energía corregida; ST = sólidos totales; SNG = sólidos no grasos; GB:PT = relación grasa butirosa:proteína total; Urea:PT = relación urea:proteína total; Caseína:PT = relación caseína:proteína total.

Los tenores de grasa, PT, PVe, ST, SNG y caseína y la relación Caseína:PT resultaron similares entre tratamientos. Se detectó una tendencia ($P = 0,07$) a una menor relación GB:PT en T10.5. El contenido de lactosa resultó mayor, mientras que el tenor de urea y la

relación Urea:PT resultaron menores en T10.5, lo cual estaría indicando una mayor disponibilidad de glucosa a nivel mamario y un mejor balance energía-proteína en rumen, respectivamente. Esta última afirmación resulta compatible con los menores valores de nitrógeno amoniacal en rumen observados en dicho tratamiento (Cuadro 6).

Los contrastes revelaron incrementos lineales para % lactosa, producción de leche, LGC4%, LEC, PT y PVe y decrementos lineales para % urea y relación Urea:PT, ante consumos crecientes de concentrado. No se detectaron efectos cuadráticos para ninguna de las variables de producción y composición de leche estudiadas.

2.4.3. Consumo de MS y energía.

No se registraron rechazos de concentrado. El consumo estimado de MS de pastura resultó mayor en T3.5, sin diferencias entre T7.0 y T10.5 (Cuadro 3). La tasa de sustitución (kg MS pastura/kg MS concentrado) resultó 0,88 y 0,23 entre T3.5 y T7.0 y T7.0 y T10.5, respectivamente.

Cuadro 3: Consumo de MS y EN_L en vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

| Variable | Tratamiento ¹ | | | EEM | <i>P</i> < ² | |
|--|--------------------------|--------------------|--------------------|------|-------------------------|---------|
| | T3.5 | T7.0 | T10.5 | | Trat | Período |
| Pastura | | | | | | |
| MS, kg d ⁻¹ | 17,42 ^a | 14,59 ^b | 13,85 ^b | 0,54 | 0,01 | 0,04 |
| EN _L ³ , Mcal d ⁻¹ | 24,92 ^a | 20,87 ^b | 19,80 ^b | 0,77 | 0,01 | 0,04 |
| Total | | | | | | |
| MS, kg d ⁻¹ | 20,60 ^b | 20,94 ^b | 23,37 ^a | 0,54 | 0,01 | 0,04 |
| EN _L ³ , Mcal d ⁻¹ | 31,43 ^c | 33,88 ^b | 39,33 ^a | 0,77 | 0,01 | 0,04 |
| EG ⁴ , Mcal EN _L d ⁻¹ | 7,96 ^c | 8,98 ^b | 9,67 ^a | 0,18 | 0,01 | 0,04 |
| Eficiencia de conversión | | | | | | |
| Leche kg MS ⁻¹ | 1,36 | 1,43 | 1,32 | 0,06 | 0,16 | 0,01 |
| Leche Mcal EN _L ⁻¹ | 0,89 ^a | 0,88 ^a | 0,78 ^b | 0,04 | 0,01 | 0,01 |
| LEC kg MS ⁻¹ | 1,18 | 1,24 | 1,12 | 0,04 | 0,09 | 0,01 |
| LEC Mcal EN _L ⁻¹ | 0,78 ^a | 0,76 ^a | 0,67 ^b | 0,03 | 0,01 | 0,01 |

^{a,b,c}Medias dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (test Tukey-Kramer, *P* < 0,05). ¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Efectos de tratamiento (Trat) y período. ³Calculado usando NRC (2001). Valores de EN_L pastura y concentrado: 1,43 y 2,05 Mcal kg MS⁻¹,

respectivamente. ⁴Energía provista por precursores glucogénicos disponibles a partir del rumen e intestino delgado.

El consumo total de MS resultó mayor en T10.5, sin diferencias entre T3.5 y T7.0, mientras que el consumo total de EN_L incrementó con el nivel de concentrado. La eficiencia de conversión de la MS resultó similar entre tratamientos, mientras que la eficiencia de conversión de la EN_L fue menor en T10.5, sin diferencias entre T3.5 y T7.0.

2.4.4. Variación de peso vivo y condición corporal.

No se detectó efecto tratamiento para ninguna de las variables asociadas a la variación de reservas corporales, a pesar que la pérdida de PV del grupo T3.5 resultó 80% superior con respecto a T10.5 (Cuadro 4).

Cuadro 4: Variación de peso vivo (Δ PV) y de condición corporal (Δ CC) en vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

| Variable | Tratamiento ¹ | | | EEM | P < ² |
|--------------------|--------------------------|-------|-------|------|------------------|
| | T3.5 | T7.0 | T10.5 | | |
| PV inicial, kg | 603,5 | 601,2 | 604,8 | 14,6 | 0,86 |
| PV final, kg | 588,0 | 591,2 | 596,2 | 13,9 | 0,19 |
| Δ PV, kg | -15,5 | -10,0 | -8,6 | 5,3 | 0,63 |
| CC inicial, 1 a 5 | 2,48 | 2,50 | 2,46 | 0,07 | 0,64 |
| CC final, 1 a 5 | 2,46 | 2,43 | 2,44 | 0,07 | 0,79 |
| Δ CC, 1 a 5 | -0,01 | -0,07 | -0,03 | 0,05 | 0,68 |

¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMs (EEM). ²Efecto tratamiento.

2.4.5. Concentración plasmática de metabolitos y hormonas.

Pese al consumo creciente de energía, los niveles circulantes de glucosa, insulina e IGF-I no fueron afectados por los tratamientos (Cuadro 5).

Cuadro 5: Concentración plasmática de metabolitos y hormonas en vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

| Variable | Tratamiento ¹ | | | EEM | <i>P</i> < ² | |
|---------------------------------|--------------------------|-------------------|-------------------|-------|-------------------------|---------|
| | T3.5 | T7.0 | T10.5 | | Trat | Período |
| Glucosa (mmol L ⁻¹) | 1,99 | 2,14 | 2,21 | 0,13 | 0,23 | 0,01 |
| Urea (mmol L ⁻¹) | 8,10 ^a | 8,38 ^a | 7,38 ^b | 0,29 | 0,04 | 0,01 |
| AGNE (μEq L ⁻¹) | 361,56 | 296,22 | 333,89 | 24,13 | 0,19 | 0,57 |
| GH (ng ml ⁻¹) | 5,74 | 6,38 | 6,11 | 2,26 | 0,98 | 0,28 |
| Insulina (ng ml ⁻¹) | 0,70 | 0,59 | 0,88 | 0,17 | 0,26 | 0,10 |
| IGF-I (ng ml ⁻¹) | 139,03 | 125,00 | 130,24 | 10,11 | 0,62 | 0,10 |

^{a,b}Medias dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (test Tukey-Kramer, *P* < 0,05). ¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMean (EEM). ²Efectos de tratamiento (Trat) y período. AGNE = ácidos grasos no esterificados; GH = somatotropina; IGF-I = somatomedina C.

La ausencia de efecto tratamiento sobre la Δ PV y Δ CC resulta compatible con las similares concentraciones plasmáticas de AGNE y de insulina. La uremia resultó significativamente menor en T10.5, resultado consistente con los menores valores de urea en leche registrados en dicho tratamiento.

2.4.6. Ambiente y digestión ruminal.

No se detectó interacción tratamiento x hora para ninguna de las variables de ambiente ruminal estudiadas, lo que implica que la respuesta a la suplementación con niveles crecientes de concentrado no fue afectada por el horario de muestreo. La concentración total de AGV resultó significativamente mayor en T3.5, sin diferencias entre T.7 y T10.5, y estaría explicada por un incremento de las concentraciones de acetato y butirato (Cuadro 6). Las proporciones molares de los AGV resultaron similares entre tratamientos. El pH disminuyó con el incremento de los niveles de suplementación. La concentración de N-NH₃ en T10.5 resultó significativamente menor con respecto a T3.5 y similar a T7.0, sin diferencias entre T3.5 y T7.0, resultado consistente con los menores valores de urea plasmática y urea en leche observados en T10.5.

Cuadro 6: Ambiente ruminal en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

| Variable | Tratamiento ¹ | | | EEM | P < ² | | |
|--|--------------------------|---------------------|--------------------|------|------------------|------|-----------|
| | T3.5 | T7.0 | T10.5 | | Trat | Hora | Trat*hora |
| AGVt (mmol L ⁻¹) | 176,1 ^a | 129,4 ^b | 133,9 ^b | 6,62 | 0,01 | 0,01 | 0,22 |
| Ac (mmol L ⁻¹) | 105,9 ^a | 77,0 ^b | 83,7 ^b | 4,12 | 0,01 | 0,01 | 0,29 |
| Ac (mol 100 mol ⁻¹) | 60,0 | 59,3 | 62,6 | 0,89 | 0,07 | 0,74 | 0,93 |
| Pr (mmol L ⁻¹) | 41,6 | 31,9 | 29,1 | 4,54 | 0,24 | 0,01 | 0,16 |
| Pr (mol 100 mol ⁻¹) | 23,7 | 24,7 | 21,6 | 0,92 | 0,11 | 0,78 | 0,98 |
| Butirato (mmol L ⁻¹) | 22,0 ^a | 14,1 ^b | 15,5 ^b | 0,76 | 0,01 | 0,01 | 0,16 |
| Butirato (mol 100 mol ⁻¹) | 11,9 | 10,9 | 11,5 | 0,12 | 0,11 | 0,01 | 0,13 |
| Ac:Pr | 2,59 | 2,55 | 2,95 | 0,35 | 0,70 | 0,08 | 0,21 |
| pH | 6,07 ^a | 6,03 ^{ab} | 5,81 ^b | 0,07 | 0,02 | 0,04 | 0,66 |
| N-NH ₃ (mg dl ⁻¹) | 49,11 ^a | 44,63 ^{ab} | 36,17 ^b | 5,49 | 0,01 | 0,09 | 0,94 |

^{a,b}Medias dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (test Tukey-Kramer, $P < 0,05$). ¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Efectos de tratamiento (Trat), hora e interacción tratamiento*hora (Trat*hora). AGVt = ácidos grasos volátiles totales; Ac = acetato; Pr = propionato; Ac:Pr = relación acetato:propionato.

El efecto hora altamente significativo refleja la variación de estas variables durante el período de muestreo. Los valores de pH mínimos para las vacas de los 3 tratamientos se registraron a la hora 0 (6:00 h) y fueron 5,81, 5,80 y 5,57 para T3.5, T7.0 y T10.5, respectivamente (Figura 2).

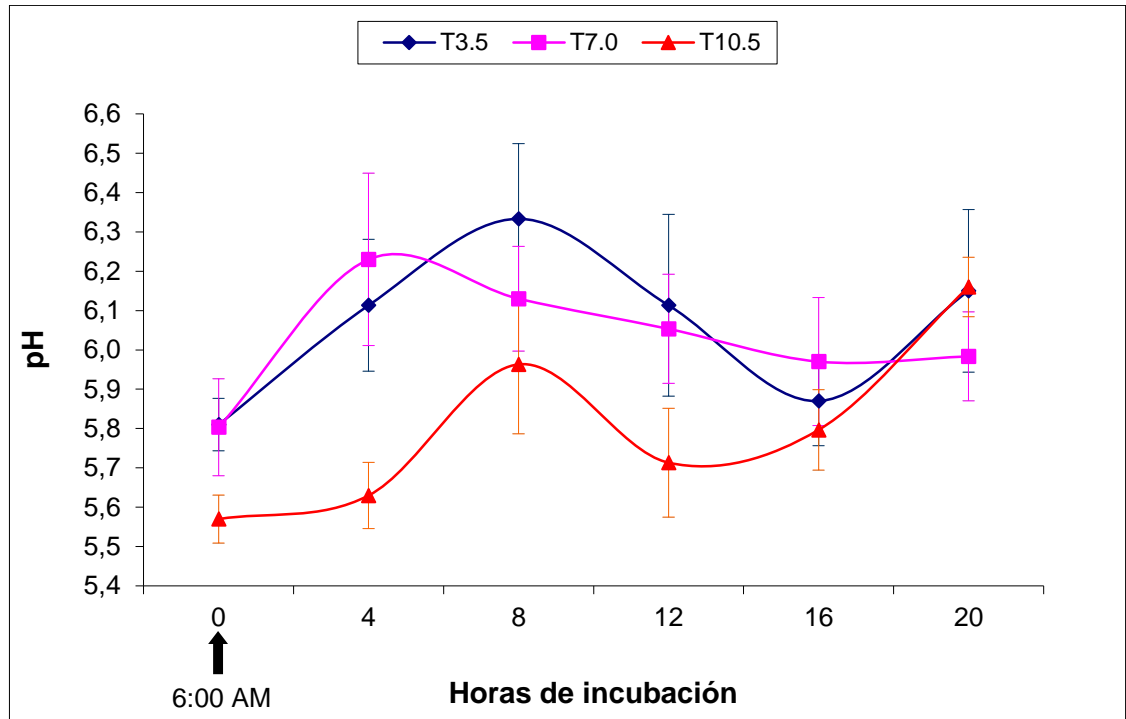


Figura 2: Evolución del pH ruminal en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

Los valores de pH máximos fueron 6,33 a la hora 8 (14:00 h), 6,23 a la hora 4 (10:00 h) y 6,16 a la hora 20 (2:00 h) para T3.5, T7.0 y T10.5, respectivamente.

En la Figura 3 se presenta la evolución de la concentración de N-NH₃ en rumen durante el período de muestreo. Las concentraciones mínimas de N-NH₃ para T3.5 y T7.0 se registraron a la hora 20 (2:00 h) y fueron 41,93 y 37,68 mg dl⁻¹, respectivamente, mientras que para T10.5 se registró a la hora 12 (18:00 h) y fue 27,20 mg dl⁻¹. A su vez, los picos máximos de N-NH₃ fueron 56,38 mg dl⁻¹ a la hora 4 (10:00 h), 54,42 mg dl⁻¹ a la hora 16 (22:00 h) y 44,77 mg dl⁻¹ a la hora 0 (6:00 h) para T3.5, T7.0 y T10.5, respectivamente.

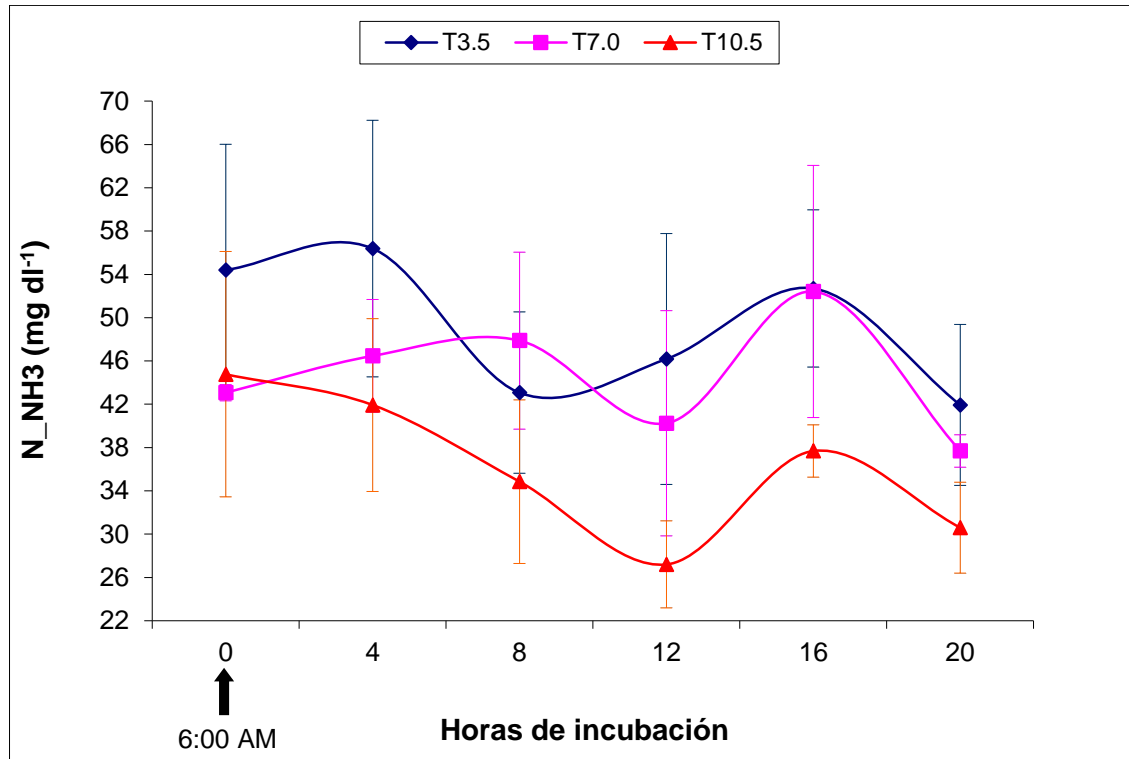


Figura 3: Evolución del N_{NH3} ruminal en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

No se detectó efecto tratamiento para ninguno de los parámetros asociados a la desaparición *in situ* del almidón del concentrado (Cuadro 7).

Cuadro 7: Cinética de desaparición ruminal del almidón del concentrado en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

| Variable | Tratamiento ¹ | | | EEM | P < ² |
|---|--------------------------|-------|-------|------|------------------|
| | T3.5 | T7.0 | T10.5 | | |
| Almidón | | | | | |
| Fracción soluble (FS) % | 35,89 | 25,60 | 33,36 | 4,27 | 0,39 |
| Fracción insoluble (FI) % | 64,11 | 74,40 | 66,64 | 4,27 | 0,39 |
| Tasa de digestión (kd) % hora ⁻¹ | 12,13 | 10,47 | 10,45 | 0,51 | 0,08 |
| Degradabilidad efectiva ³ | | | | | |
| kp = 5 % hora ⁻¹ | 81,16 | 75,86 | 78,57 | 1,38 | 0,21 |

¹Valores expresados a través de las LSMMeans y el error estándar de las LSMMeans (EEM).
²Efecto tratamiento. ³Asumiendo una tasa de pasaje (kp) de 5 % hora⁻¹ (Van Vuuren *et al.*, 1992).

Las curvas de desaparición del almidón del concentrado en los distintos tratamientos en función al tiempo de incubación en rumen se presentan en la Figura 4. Las ecuaciones utilizadas para graficarlas fueron:

$$T3.5: p = 35,89 + 64,11 (1 - e^{-(0,1213 * t)})$$

$$T7.0: p = 25,60 + 74,40 (1 - e^{-(0,1047 * t)})$$

$$T10.5: p = 33,36 + 66,64 (1 - e^{-(0,1045 * t)})$$

y se basaron en el modelo de Ørskov y McDonald (1979): $p = FS + FI (1 - e^{-(kd * t)})$, descrito en materiales y métodos.

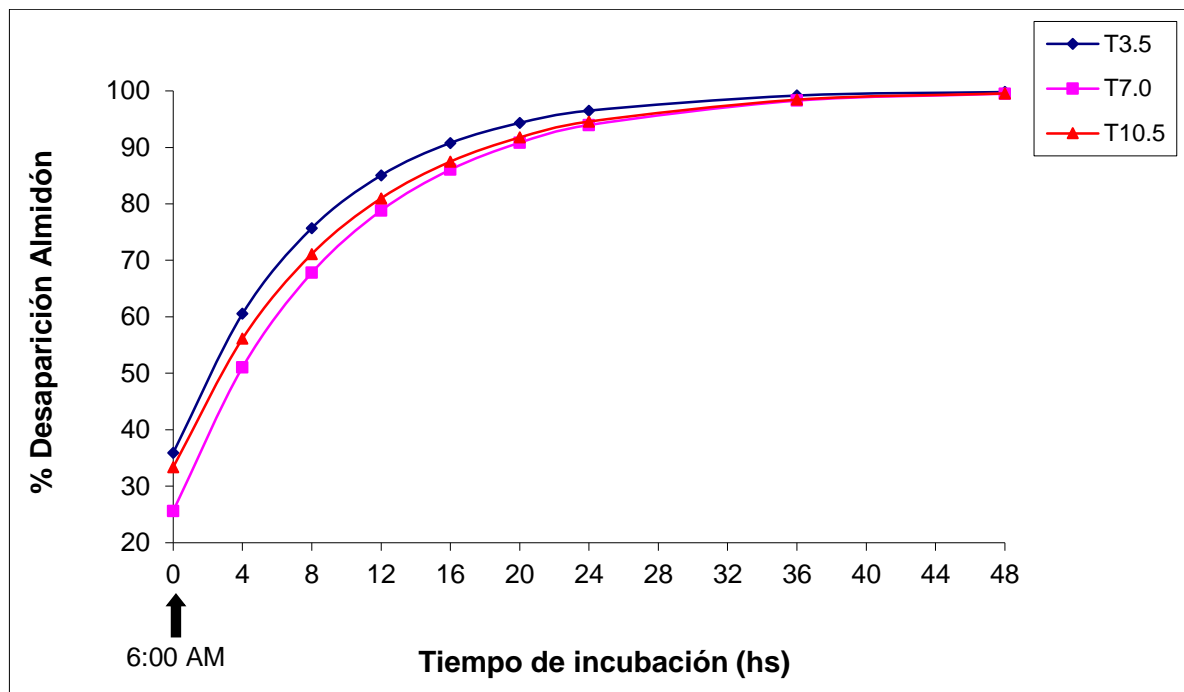


Figura 4: Desaparición del almidón en función del tiempo de incubación en rumen en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

Los perfiles de desaparición ruminal acumulada del almidón del concentrado a lo largo del tiempo resultaron similares entre tratamientos, resultado consistente con la ausencia de efecto tratamiento para los parámetros asociados a la cinética de digestión ruminal.

La suplementación con niveles crecientes de concentrado no afectó significativamente ninguno de los parámetros asociados a la cinética de digestión ruminal de la PC (Cuadro 8).

Cuadro 8: Cinética de desaparición ruminal de la pared celular (PC) del forraje en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

| Variable | Tratamiento ¹ | | | EEM | P < ² |
|--------------------------------------|--------------------------|--------------------|--------------------|------|------------------|
| | T3.5 | T7.0 | T10.5 | | |
| PC | | | | | |
| FPDPC (%) | 54,08 | 54,55 | 50,00 | 4,06 | 0,69 |
| TFDPC (% hora ⁻¹) | 12,17 | 8,29 | 7,53 | 0,95 | 0,12 |
| TRIDPC (horas) | 0,13 | 1,78 | 1,05 | 0,92 | 0,55 |
| Degradabilidad efectiva ³ | | | | | |
| kp = 5 % hora ⁻¹ | 38,09 ^a | 29,82 ^b | 28,38 ^c | 0,32 | 0,01 |

^{a,b,c}Medias dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (test Tukey-Kramer, P < 0,05). ¹Valores expresados a través de las LSMeans y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Efecto tratamiento. ³Asumiendo una tasa de pasaje (kp) de 5 % hora⁻¹ (Van Vuuren *et al.*, 1992). FPDPC = Fracción potencialmente digestible de la PC; TFDPC = Tasa fraccional de digestión de la PC; TRIDPC = Tiempo de retardo en el inicio de la digestión de la PC.

La degradabilidad efectiva de la PC del forraje disminuyó (entre 8,3 a 9,7 puntos porcentuales) con el incremento del nivel de suplementación. Este resultado es compatible con la disminución de los valores de pH ruminal observada con consumos crecientes de concentrado y contribuiría a explicar las menores concentraciones totales de AGV en T7.0 y T10.5.

En la Figura 5 se muestran las curvas de desaparición ruminal de la PC del forraje en función al tiempo de incubación. Las ecuaciones utilizadas para graficarlas fueron:

$$\text{T3.5: Desaparición PC (\%)} = 100 - (Y = 54,08 * e^{-(0,1217 * (t - 0,13))} + 45,92)$$

$$\text{T7.0: Desaparición PC (\%)} = 100 - (Y = 54,55 * e^{-(0,0829 * (t - 1,78))} + 45,45)$$

$$\text{T10.5: Desaparición PC (\%)} = 100 - (Y = 50,00 * e^{-(0,0753 * (t - 1,05))} + 50,00)$$

y se basaron en el modelo de Mertens y Loften (1980): $Y = \text{FPDPC} * e^{-(\text{TFDPC} * (t - \text{TRIDPC}))} + \text{FIPC}$, descrito en materiales y métodos.

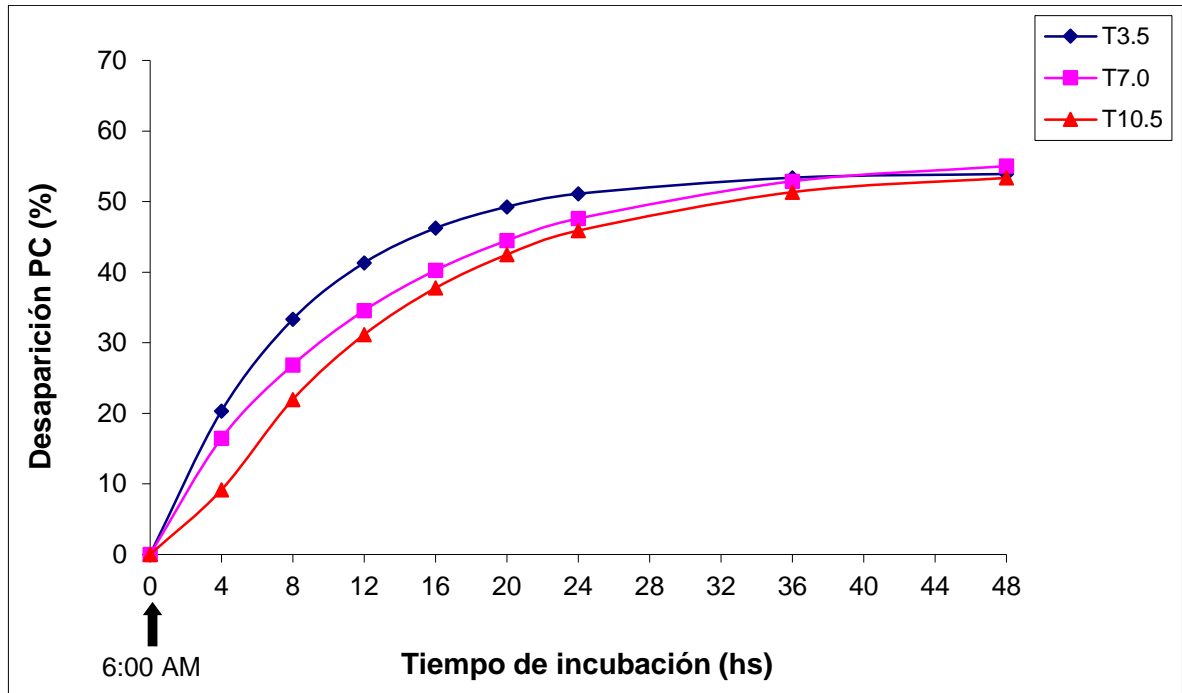


Figura 5: Desaparición de la pared celular (PC) del forraje en función del tiempo de incubación en rumen en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

Los valores de degradabilidad ruminal de la FDN de la pastura a las 48 horas de incubación resultaron similares entre tratamientos (53,9, 55,0 y 53,4%, para T3.5, T7.0 y T10.5, respectivamente, Figura 5).

2.5. DISCUSIÓN ENSAYO 1

2.5.1. Características de las pasturas utilizadas.

La asignación de forraje y la disponibilidad de las pasturas son dos factores no nutricionales que afectan el consumo de animales en pastoreo (Poppi, Hughes y L'huillier, 1987). En un meta-análisis incluyendo datos de 31 ensayos realizados en condiciones de pastoreo, Baudracco *et al.* (2010) reportaron que el máximo consumo de MS se alcanzaría con una asignación de pastura de 31 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹ medida a más de 3 cm por encima del nivel del suelo, muy cercana a la empleada en este estudio. Coincidentemente, dicho valor de asignación se ubica dentro del rango propuesto Leaver (1985) en su trabajo de revisión, quien planteó que el máximo consumo de MS se alcanzaría cuando la oferta de pastura oscila entre 45 a 55 g MS kg PV⁻¹ día⁻¹, lo que para una vaca promedio de este estudio (597 kg PV) equivaldría a unos 27 a 33 kg MS día⁻¹. La información mencionada precedentemente ha sido obtenida sobre pasturas con predominio de raigrás perenne (*Lolium perenne*). Trabajando con pasturas de alfalfa (*Medicago sativa*), investigadores argentinos evaluaron el efecto de niveles crecientes de asignación de pastura sobre el consumo y la respuesta productiva de vacas lecheras, cortando la pastura a una altura de 4 cm del suelo y bajo condiciones de pastoreo rotativo en franjas diarias sin suplementación. El máximo consumo de MS (19,5 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹) se alcanzó con una asignación de 30 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹ (Romero *et al.*, 1995).

Por otro lado, cuando la disponibilidad de pasturas de buena calidad se encuentra alrededor de los 2000 kg MS ha⁻¹ (disponibilidad muy cercana al valor promedio registrado en el presente ensayo) y el tiempo de pastoreo no está restringido, se lograrían los máximos consumos de forraje (Minson, 1990).

El tenor de MS promedio del forraje (Cuadro 1) se ubicó por encima del rango crítico (15-18%) que afectaría el consumo (Verité and Journet, 1970). El contenido de PB promedio de las pasturas (Cuadro 1) estuvo dentro del rango (150-250 g PB kg MS⁻¹) propuesto por Minson (1990) a los fines de obtener elevados coeficientes de digestibilidad de la MS del forraje. A su vez, el contenido de FDN promedio de las pasturas (Cuadro 1) estuvo muy por debajo de los valores considerados críticos (500-550 g FDN kg MS⁻¹) a fin de obtener un elevado consumo de forraje y una adecuada producción de leche (Paterson *et al.*, 1994).

Se podría concluir entonces que la asignación de forraje resultó adecuada, tanto en cantidad como en calidad, a fin de permitir elevados consumos.

2.5.2. Producción y composición de la leche.

La producción de leche aumentó con el nivel de suplementación, sin incrementos adicionales por encima de T7.0 (Cuadro 2). Trabajando con ensilaje de pastura como forraje de base, Rigout *et al.* (2003) concluyeron que en vacas produciendo entre 27 y 30 kg día⁻¹, la máxima respuesta en producción de leche se alcanzaría cuando el consumo de energía bajo la forma de precursores glucogénicos (EG) disponibles a partir del rumen e intestino delgado (propionato más glucosa exógena) es del orden de 8-10 Mcal EN_L vaca⁻¹día⁻¹. Estos resultados coinciden con los obtenidos en el presente trabajo en condiciones pastoriles de alimentación y contribuirían a explicar en parte la falta de respuesta obtenida en producción de leche entre 7,0 y 10,5 kg de concentrado, ya que el consumo de EG en estos dos tratamientos (8,98 y 9,67 Mcal EN_L d⁻¹, para T7.0 y T10.5, respectivamente, Cuadro 3) está dentro del rango que maximiza la producción de leche.

La inclusión de suplementos energéticos en condiciones pastoriles de alimentación incrementó el contenido proteico de la leche (Bargo *et al.*, 2003; Kellaway y Harrington, 2004), resultado no observado en este estudio (Cuadro 2). Este incremento se explicaría por un aumento en la proporción de propionato producido en el rumen y por una mayor producción de proteína microbiana (Beever *et al.* (2001), en Kellaway y Harrington (2004)), lo cual resulta en una incrementada disponibilidad de aminoácidos en el intestino delgado. Los aminoácidos absorbidos asociados con glucosa (derivada del metabolismo del propionato en hígado) representan el sustrato principal para la síntesis de proteína láctea. Rigout *et al.* (2003) también informaron incrementos en la concentración proteica de la leche (+0,04%) por cada Mcal extra de EG consumida en un rango que va de 4 a 12 Mcal día⁻¹. Según los consumos de EG teóricamente alcanzados en el presente ensayo (Cuadro 3), un incremento en el contenido de proteína de la leche hubiese sido esperable. La ausencia de un incremento significativo en el contenido proteico de la leche podría explicarse por un efecto de dilución a causa del aumento en la producción de leche observado. La producción de proteína, en cambio, incrementó linealmente con los niveles de suplementación (Cuadro 2), resultado similar al informado por Reis y Combs (2000) quienes suplementaron vacas

lecheras en pastoreo de pasturas mixtas de alfalfa-raigrás con 3 niveles (0, 5 y 10 kg MS día⁻¹) de concentrado a base de maíz.

El tenor de grasa butirosa resultó similar entre tratamientos (Cuadro 2). Este resultado no coincide con Bargo *et al.* (2003) quienes en su trabajo de revisión informaron una disminución lineal en el porcentaje de grasa butirosa ante niveles crecientes de suplementación con concentrado (hasta 10 kg MS día⁻¹) en condiciones de pastoreo. Según Kellaway y Porta (1993), el principal factor que afecta el contenido de grasa de la leche es el nivel de fibra en la dieta. Para prevenir reducciones en la concentración de grasa butirosa, las dietas para vacas lecheras deberían contener un mínimo de 25 % de FDN con 16 % de FDN proveniente del forraje (NRC, 2001). En el presente ensayo, la dieta de las vacas que consumieron la mayor dosis de concentrado (T10.5) presentó un 31.5 % de FDN con un 24,6% de FDN proveniente del forraje. Puede concluirse que esta cantidad de fibra resultó suficiente para evitar un decremento en la concentración de grasa butirosa. La producción de grasa también resultó similar entre tratamientos (Cuadro 2). Walker *et al.* (2001) reportaron una significativa reducción en la concentración y producción de grasa butirosa en vacas en pastoreo cuando la participación del concentrado energético superó el 50% de la dieta (base MS). Valor que no fue alcanzado en el presente ensayo cuando las vacas consumieron la mayor dosis de concentrado (T10.5), nivel que representó un 40,7 % de la MS total consumida, lo cual contribuiría a explicar la ausencia de efecto tratamiento sobre la producción de grasa butirosa.

En condiciones no pastoriles de alimentación, utilizando ensilaje de pastura como forraje de base, un aumento en la disponibilidad de precursores glucogénicos y fundamentalmente de glucosa resultó clave para maximizar la síntesis de lactosa (Rigout, Lemosquet, van Eys *et al.*, 2002; Rigout *et al.*, 2003; Lemosquet *et al.*, 2004). En sintonía con estos resultados, en este estudio el contenido de lactosa incrementó linealmente con los niveles de suplementación (Cuadro 2).

La producción de LGC4% y LEC incrementó con el nivel de suplementación, sin diferencias entre T7.0 y T10.5 (Cuadro 2). En una serie de experimentos controlados de suplementación en pastoreo realizados en Australia, Walker *et al.* (2001) detectaron una relación curvilínea entre la producción de LGC4% y el consumo de concentrado a base de cereales (desde 0 hasta 10,4 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹). En los mencionados estudios, la producción de LGC4% incrementó significativamente con el consumo de concentrado, pero

tendió a un *plateau* antes de alcanzar los mayores niveles de consumo. Esta respuesta estaría explicada por dos mecanismos: un aumento del nivel de sustitución de pastura por concentrado y una disminución del pH ruminal llevando a una disminución en la digestión de la fibra a medida que aumenta el nivel de suplementación con concentrado (García y Fulkerson, 2005). En el presente trabajo la tasa de sustitución (kg MS pastura/kg MS concentrado) no aumentó con el nivel de suplementación (0,56 en promedio y 0,23 entre T7.0 y T10.5). Sin embargo, el aporte de niveles crecientes de concentrado provocó una disminución del pH ruminal (Cuadro 6) y afectó la degradabilidad efectiva de la PC del forraje (Cuadro 8), explicando en parte la ausencia de cambios en la producción de LGC4% y LEC cuando el nivel de suplementación superó el 30% de la MS total consumida.

El contenido de urea en leche disminuyó con el incremento de los niveles de suplementación (Cuadro 2). Estudios previos mostraron resultados similares (Reis y Combs, 2000; Bargo *et al.*, 2002a). En concordancia con la disminución del contenido de nitrógeno ureico en leche, en los citados ensayos se detectó una reducción significativa de la concentración de amonio en rumen, sugiriendo que la suplementación mejoró la utilización del nitrógeno de las dietas de los animales suplementados. En el presente estudio, la concentración de N-NH₃ en rumen disminuyó significativamente con niveles crecientes de concentrado (Cuadro 6), lo que contribuiría a explicar la reducción observada en el contenido de urea en leche.

2.5.3. Consumo de MS y energía.

El consumo de MS de pastura disminuyó (-3,6 kg día⁻¹) y el de MS total aumentó (+2,8 kg día⁻¹) en T10.5 vs. T3.5 (Cuadro 3). En sintonía con estos resultados, Bargo *et al.* (2003) en su trabajo de revisión informaron una reducción en el consumo de MS de pastura (-1,9 kg día⁻¹) y un incremento en el consumo de MS total (+3,6 kg día⁻¹) con niveles crecientes de suplementación con concentrado (desde 1,8 hasta 10,4 kg MS día⁻¹) en condiciones de pastoreo.

La inclusión de suplementos en la dieta de vacas lecheras generalmente deprime el consumo de MS de pastura. Este fenómeno se denomina sustitución debido a que la pastura es sustituida por el suplemento (Kellaway y Porta, 1993). Si bien se hubiese esperado un mayor grado de sustitución y menor de adición entre T7.0 y T10.5, Bargo *et al.* (2003) sostienen que los estudios conducidos con vacas lecheras de alta producción en

pastoreo muestran una inconsistente relación entre la cantidad de suplemento y la tasa de sustitución. Si consideramos los tratamientos extremos (T3.5 y T10.5) la tasa de sustitución fue de 0,56, kg MS pastura/kg MS concentrado, cercana al valor 0,62 reportado por estos autores para asignaciones de pastura mayores a 25 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹.

Una de las principales teorías que explican la sustitución de forraje por concentrado consiste en la ocurrencia de efectos asociativos negativos en el rumen. Los efectos asociativos se presentan cuando la digestión de un alimento no es independiente de otro u otros alimentos (Hart, 1987). Los carbohidratos no estructurales aportados con el concentrado pueden provocar reducciones en los valores de pH ruminal, llevando a una disminución en la actividad y/o el número de bacterias celulolíticas, reduciendo así la tasa de digestión de la FDN del forraje y por ende el consumo de MS de pastura (Dixon y Stockdale, 1999). En este estudio, la suplementación con niveles crecientes de concentrado redujo la degradabilidad efectiva de la PC del forraje (Cuadro 8), lo que contribuiría a explicar la mayor tasa de sustitución observada entre T7.0 y T10.5.

El consumo total de EN_L incrementó significativamente con el nivel de suplementación (Cuadro 3). Este resultado se debe a un aumento en el consumo de EN_L proveniente del concentrado (6,51 y 13,02 Mcal d⁻¹ para T7.0 y T10.5, respectivamente), ya que el consumo de EN_L a partir de la pastura disminuyó con niveles crecientes de suplementación (-4,05 y -5,12 Mcal d⁻¹ para T7.0 y T10.5, respectivamente).

La eficiencia de conversión de la MS resultó similar entre tratamientos, mientras que la eficiencia de conversión de la EN_L resultó significativamente menor en T10.5 con respecto a T3.5 y T7.0 (Cuadro 3). Puesto que en T3.5 las vacas aparentemente movilizaron mayor energía endógena para sostener la producción de leche (Cuadro 4), las diferencias reales en la eficiencia de conversión podrían en parte estar enmascaradas. En línea con estos resultados, Wales (2005), citado por Beever y Doyle (2007), informó que el consumo de niveles crecientes de un concentrado a base de cereales incrementó la producción de LEC en vacas pastoreando raigrás perenne con una alta asignación, sin efectos sobre la eficiencia de conversión (LEC kg MS⁻¹). El autor atribuyó en gran medida la falta de respuesta en la eficiencia de conversión a las elevadas tasas de sustitución registradas, aunque las diferencias entre tratamientos en la movilización de reservas corporales podrían haber contribuido también con este resultado.

2.5.4. Variación de peso vivo y condición corporal y concentración plasmática de metabolitos y hormonas.

No se detectó efecto tratamiento para ninguna de las variables asociadas a la variación de reservas corporales (Cuadro 4). La variación de peso vivo en vacas en lactancia resulta un parámetro impreciso ya que los cambios reales suelen estar enmascaradas por consumos crecientes de materia seca, diferencias en el llenado del contenido del tracto digestivo y fenómenos de involución uterina. El aparato digestivo se encuentra en plena evolución en primer tercio de lactancia, por lo que es posible encontrar diferencias en el llenado incluso cuando la calidad y cantidad de la pastura se mantengan relativamente constantes. El pico de consumo ocurre entre las 8 y 22 semanas posparto (esto es, 56 y 154 días posparto, respectivamente; en promedio 105 días) y el incremento en el consumo desde la primer semana posparto hasta el pico de consumo se ha informado que varía entre 2 y 111% (Kennedy *et al.*, 2008; McEvoy *et al.*, 2009). Otros autores (Bargo *et al.*, 2002a; Delahoy *et al.*, 2003) tampoco observaron efecto de la suplementación energética sobre la variación de reservas corporales. Bargo *et al.* (2002a) informaron que el consumo de 8,6 kg MS día⁻¹ de concentrado en vacas lecheras en pastoreo no afectó ninguno de los parámetros asociados a la movilización de reservas corporales en relación a vacas sin suplementar y sugirieron que el diseño en cuadrado latino utilizado podría haber disimulado diferencias entre tratamientos. En el presente trabajo, el diseño experimental empleado (crossover) también podría haber atenuado las diferencias reales entre tratamientos. En tal sentido, Bargo *et al.* (2002a) sostienen que indicadores de corto plazo tales como la concentración plasmática de AGNE son útiles para hacer inferencias sobre los cambios en las reservas corporales cuando se utilizan períodos experimentales reducidos. En el presente estudio, los niveles circulantes de AGNE (parámetro indicador de lipomovilización) resultaron similares entre tratamientos (Cuadro 5), resultado consistente con la ausencia de diferencias en los parámetros asociados a la variación de reservas corporales.

Conjuntamente con los AGNE, la glucosa plasmática y las hormonas reguladoras como la insulina, la GH y el IGF-I también actúan como indicadores dinámicos o a corto plazo del balance energético (Cissé *et al.*, 1991; Chilliard, Bocquier y Doreau, 1998). Si el animal se encuentra en balance energético negativo, se observa una disminución en las concentraciones plasmáticas de glucosa, insulina e IGF-I y un aumento en los niveles de AGNE (Grummer, 1995; Van Knegsel *et al.*, 2007).

A pesar del consumo diferencial de EG (Cuadro 3), las concentraciones plasmáticas de glucosa resultaron similares entre tratamientos (Cuadro 5), en concordancia con los antecedentes que indican que la glucemia de los bovinos se mantiene relativamente constante, producto del potente mecanismo de control homeostático hormonal (Noro *et al.*, 2006). Debido a esto, la insulina podría ser un mejor indicador del estatus nutricional de los animales, ya que cumple un papel importante en el metabolismo de la glucosa (Hess *et al.*, 2005). En este ensayo, la ausencia de efectos sobre la concentración plasmática de insulina (Cuadro 5) resultó coherente con los similares tenores plasmáticos de glucosa observados.

La producción hepática de IGF-I esta positivamente correlacionada con el consumo de energía y con el tenor plasmático de GH (McGuire *et al.*, 1998). Pese al consumo creciente de energía, la concentración plasmática de IGF-I no fue afectada por los tratamientos (Cuadro 5), resultado compatible con los similares niveles circulantes de GH observados.

Según DePeters y Ferguson (1992) el nitrógeno ureico en leche deriva principalmente del nitrógeno ureico en sangre que es producido a partir del N-NH₃ ruminal excedente y del catabolismo de los aminoácidos en el hígado. En el presente trabajo, la concentración plasmática de urea resultó menor en T10.5 (Cuadro 5), resultado compatible con los menores valores de N-NH₃ en rumen (Cuadro 6) y de urea en leche (Cuadro 2) observados en dicho tratamiento.

El aporte creciente de concentrado energético a vacas lecheras en pastoreo de alfalfa no afectó ninguna de las variables asociadas al estado corporal evaluadas, tampoco modificó el perfil hormonal y metabólico de las vacas, excepto la uremia que disminuyó con el mayor nivel de suplementación. Aparentemente la energía extra consumida fue derivada a producción de leche.

2.5.5. Ambiente y digestión ruminal.

En el presente estudio, el pH ruminal disminuyó con el incremento del nivel de suplementación (Cuadro 6). Coincidentemente, Bargo *et al.* (2003) en su revisión informaron que incrementando el nivel de suplementación con concentrado energético desde 1,1 hasta 10 kg MS día⁻¹ se redujo el pH ruminal 0,08 unidades, comparado con dietas exclusivamente pastoriles. Niveles elevados de carbohidratos no estructurales fermentables en rumen en la dieta disminuyen la masticación y la rumia, reducen la motilidad ruminal, modifican la producción de ácidos orgánicos y reducen la capacidad

buffer de la dieta, llevando a un pH ruminal disminuido (Owens y Goetsch, 1988, citado por Kolver y de Veth, 2002).

En sintonía con estudios previos (Reis y Combs, 2000; Bargo *et al.*, 2002a; Leddin *et al.*, 2010), la suplementación con niveles crecientes de concentrado redujo la concentración de N-NH₃ (Cuadro 6). La reducción en la concentración ruminal de N-NH₃ con la suplementación podría estar asociada con una mayor captura del N-NH₃ resultante de la elevada degradabilidad ruminal de la PB de las pasturas o con una disminución en el consumo de PB total debido a que los suplementos energéticos tienen un menor contenido de PB que las pasturas (Bargo *et al.*, 2002a). En el presente estudio, la reducción en la concentración de N-NH₃ podría explicarse por una mejor utilización del mismo por parte de las bacterias ruminales, ya que el consumo de PB total resultó similar entre tratamientos ($4,80 \pm 0,13 \text{ kg día}^{-1}$, $P = 0,11$).

La bibliografía indica que la concentración de N-NH₃ puede variar entre 5 y 25 mg %⁻¹, dependiendo de las características de la dieta. Los valores de N-NH₃ obtenidos en el presente estudio se encuentran por encima del rango mencionado, aún en T10.5, pero resultaron similares a los informados por Castillo *et al.* (1992) sobre pasturas de alfalfa y considerando que la hiperamoneinemia ruminal es sinónimo de intoxicación con urea, dichos valores estarían dentro de niveles tóxicos (Symonds, Mather y Collis, 1981; Visek, 1984). Sin embargo, Castillo y *et al.* (1992) sostienen que los animales que permanecen largos períodos sobre pasturas de alfalfa, manifiestan una gran capacidad de adaptación a los desequilibrios ruminales que se generan bajo esas condiciones y que estarían relacionados con trastornos metabólicos y reproductivos.

Contrariamente a lo esperado, el tratamiento T3.5 fue el que presentó la mayor concentración total de AGV (Cuadro 6), lo que estaría explicado por la buena calidad de las pasturas utilizadas en el ensayo (Cuadro 1). Una forma de aumentar la concentración de AGV en el rumen es utilizar pasturas de buena calidad, ya que la digestibilidad del forraje de alta calidad está menos comprometida a bajos pH ruminales que la de un forraje de baja calidad (Kolver y de Veth, 2002). Además, el bajo pH ruminal generado con dietas pastoriles está más relacionado con una producción intensiva de AGV que con la producción de ácido láctico (Kolver y de Veth, 2002).

La concentración instantánea de AGV es el resultado del balance entre la producción y absorción a través de las paredes ruminales. Según Dijkstra *et al.* (1993), la velocidad de

absorción de AGV está relacionada directamente con su producción e inversamente con el pH, evitando su acumulación en el rumen. Estos investigadores introdujeron en el rumen (previamente vaciado) de vacas lecheras fistuladas soluciones experimentales con distintos niveles de pH y reportaron que las tasas fraccionales de absorción de los AGV propiónico y butírico aumentaron significativamente (desde 0,35 y 0,28 hasta 0,67 y 0,85/h, respectivamente) a medida que el pH disminuyó de 7,2 a 4,5, sin efectos significativos sobre la tasa fraccional de absorción de ácido acético. En función al rango de pH observado en el presente ensayo (5,57 – 6,33) es posible asumir que las tasas de absorción de los AGV propiónico y butírico fueron elevadas, mientras que la tasa de absorción del ácido acético no fue afectada por el nivel de pH. Ello contribuiría a explicar en parte la mayor concentración total de AGV registrada en el tratamiento T3.5.

Las proporciones molares de AGV y la relación acetato:propionato resultaron similares entre tratamientos (Cuadro 6), resultado consistente con la ausencia de diferencias en el tenor graso de la leche (Cuadro 2). Coincidentemente, Sairanen *et al.* (2005) suplementaron vacas lecheras canuladas en rumen que recibían forraje fresco cortado con 3 niveles (0, 3 y 6 kg día⁻¹) de un concentrado a base de cereales y solo observaron pequeños cambios en las proporciones de AGV, sin efectos significativos sobre la relación acetato:propionato. Los autores concluyeron que los elevados contenidos de carbohidratos solubles y de FDN altamente digestible tanto en el concentrado como en el forraje fresco contribuirían a explicar estos resultados.

La suplementación con niveles crecientes de concentrado redujo significativamente la degradabilidad efectiva de la PC del forraje (Cuadro 8), sugiriendo la existencia de efectos asociativos negativos en el rumen (Dixon y Stockdale, 1999). Estudios previos mostraron resultados similares (Bargo *et al.*, 2002a; Granzin, 2004). Comparado con dietas basadas en pasturas sin suplementación, el consumo de 8,6 kg MS día⁻¹ de un concentrado a base de maíz redujo la tasa de degradación de la MS y de la FDN de la pastura (Bargo *et al.*, 2002a). Niveles crecientes de suplementación (desde 4,5 a 8,1 kg MS día⁻¹) con concentrados a base de cebada o maíz redujeron la digestibilidad de la FDN de pasturas de raigrás o kikuyo (Granzin, 2004). El pH ruminal promedio registrado en T10.5 (5,81, Cuadro 6), resultó similar al valor umbral por encima del cual la digestión ruminal de la fibra del forraje no resultaría afectada (De Veth y Kolver, 2001). Sin embargo, el período de tiempo que el pH ruminal permanece por debajo del óptimo y las grandes variaciones en el

pH ruminal pueden constituir factores más críticos para una adecuada fermentación que un pH promedio subóptimo (Wales *et al.*, 2004; Cerrato *et al.*, 2007). A pesar que en el presente trabajo de tesis no se analizó el área bajo la curva, se estima que el tiempo que el pH estuvo por debajo de 5,8 en T10.5 fue superior a 4 horas, Figura 2), lo que contribuiría a explicar la reducción en la degradabilidad efectiva de la FDN de la pastura observada en dicho tratamiento.

La estimación de la degradabilidad efectiva asumiendo una tasa de pasaje igual para los diferentes tratamientos dietarios podría conducir a errores ya que las mismas pueden variar con el consumo. Sin embargo, en algunos estudios este efecto no fue observado. Así, Reis y Combs (2000) suplementaron vacas lecheras de alta producción en pastoreo de pasturas mixtas de alfalfa-raigrás con 3 niveles (0, 5 y 10 kg MS día⁻¹) de un concentrado a base de maíz e informaron que la tasa de pasaje (3,3 % hora⁻¹) y el tiempo de retención del forraje en rumen (31,9 horas) no resultaron afectados por el nivel de suplementación, a pesar de que el consumo MS total incrementó linealmente ($P < 0,01$) con los niveles crecientes de concentrado (13,9, 17,7 y 19,8 kg MS total día⁻¹, para 0, 5 y 10 kg MS concentrado día⁻¹, respectivamente). Similarmente, Bargo *et al.* (2002a) suplementaron vacas lecheras de alta producción pastoreando gramíneas templadas a dos niveles de asignación de pastura (25 y 40 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹) con 2 niveles (0 y 8,6 kg MS día⁻¹) de un concentrado a base de maíz y no encontraron un efecto significativo ($P > 0,10$) del nivel de suplementación sobre la tasa de desaparición y el tiempo de retención del contenido ruminal (9,9 vs. 12,7 % hora⁻¹ y 14,0 vs. 12,5 horas, para 0 y 8,6 kg MS concentrado día⁻¹, respectivamente), pese a que el consumo de MS total aumentó ($P < 0,01$) en las vacas suplementadas (24,5 vs. 19,8 kg día⁻¹).

En pasturas base alfalfa de primavera, el aporte de niveles crecientes de concentrado energético provocó una disminución del pH ruminal, afectando negativamente la digestión de la fibra del pasto, sin efectos sobre el tenor graso de la leche. Además, se redujo la concentración de amonio ruminal y con ello los valores de urea en leche.

2.6. CONCLUSIONES ENSAYO 1

En las condiciones del presente ensayo, el consumo de niveles crecientes de concentrado energético provocó incrementos de la producción de leche, LGC4% y LEC, sin respuestas adicionales cuando el mismo resultó superior al 30% de la MS total consumida por vacas en pastoreo produciendo alrededor de 30 kg leche día⁻¹, pero no produjo efectos sobre la composición química de la leche, excepto el contenido de lactosa que aumentó y el de urea que disminuyó con el mayor nivel de suplementación. El consumo total de MS y EN_L incrementó con el nivel de suplementación, sin efectos sobre la eficiencia de conversión. El mayor consumo de MS y de energía no fue canalizado hacia una acumulación diferencial de reservas corporales ni disminución de parámetros asociados a lipomovilización. La ausencia de efectos positivos sobre incrementos en la ganancia de peso ante variaciones en el consumo y/o naturaleza de la energía absorbida resultaron compatibles con la falta de cambios hormonales tendientes a la partición diferencial de la energía consumida (GH, Insulina). Los resultados podrían estar asociados a una disminución en la digestión de la fibra de la pastura a causa de valores inferiores de pH ruminal cuando el nivel de aporte del concentrado superó el 30% de la MS total consumida, sugiriendo la existencia de efectos asociativos negativos en el rumen. Si el objetivo es obtener una mayor producción de proteína láctea o reducir los excesos de amoníaco ruminal y de urea en leche, suplementaciones del orden del 41% del consumo de MS permitirían alcanzar los resultados.

2.7. RESULTADOS ENSAYO 2

El objetivo de realizar dos ensayos similares fue explicitado en la descripción de los tratamientos.

2.7.1. Composición química de los alimentos.

En el Cuadro 9 se presentan los valores promedio de composición química de las pasturas y del concentrado utilizados en el ensayo. La biomasa aérea promedio de las pasturas y la asignación diaria de forraje fueron $1995,8 \pm 260,4$ kg MS ha⁻¹ y $31,4 \pm 1,9$ kg MS vaca⁻¹ día⁻¹, respectivamente.

Cuadro 9: Composición química de los alimentos utilizados¹

| Componentes | Pastura ² | Concentrado |
|-------------|----------------------|-------------|
| MS (%) | 22,5 ± 2,0 | 90,8 ± 1,0 |
| | | % de la MS |
| MO | 90,2 ± 0,8 | 93,9 ± 0,8 |
| DIVMS | 75,2 ± 2,8 | 86,1 ± 3,5 |
| PB | 25,1 ± 3,3 | 18,3 ± 2,0 |
| FDN | 34,8 ± 3,9 | 18,0 ± 2,0 |
| FDA | 19,9 ± 1,6 | 6,6 ± 1,2 |
| LDA | 4,6 ± 1,1 | 1,2 ± 0,4 |
| EE | 2,9 ± 0,3 | 6,0 ± 0,6 |
| Almidón | nd | 42,5 ± 4,4 |

¹Valores expresados a través del promedio ± el desvío estándar. ²Pasturas perennes de alfalfa (*Medicago sativa*). MS = materia seca; MO = materia orgánica; DIVMS = digestibilidad *in vitro* de la MS; PB = proteína bruta; FDN = fibra detergente neutro; FDA = fibra detergente ácido; LDA = lignina detergente ácido; EE = extracto etéreo; nd = no determinado.

Minson (1990) sugirió que una asignación diaria de forraje de alrededor de 45 g MO kg PV⁻¹ día⁻¹ permitiría lograr máximos consumos a vacas lecheras en pastoreo. Teniendo en cuenta el PV promedio de las vacas a lo largo de este ensayo (583 kg, Cuadro 12) y el tenor de MO de las pasturas utilizadas (90,2 %), dicha asignación sería de 29.1 kg MS día⁻¹, muy cercana a la utilizada en el presente trabajo de tesis. Más recientemente, Baudracco *et al.* (2010) reportaron que en pasturas con predominio de raigrás perenne (*Lolium perenne*), el máximo consumo de MS se alcanzaría con una asignación de pastura de 31 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹, similar a la empleada en este estudio. En pasturas de alfalfa (*Medicago sativa*), bajo

condiciones de pastoreo rotativo en franjas diarias sin suplementación, el máximo consumo de MS de vacas lecheras se alcanzó con una asignación de 30 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹ (Romero *et al.*, 1995). Por otro lado, cuando la disponibilidad de pastura promedió 2000 kg MS ha⁻¹ (valor muy cercano al registrado en el presente ensayo) y el tiempo de pastoreo no fue restringido, se obtuvo el máximo consumo de forraje (Minson, 1990).

El tenor de MS promedio del forraje se ubicó por encima del rango crítico (15-18%) que afectaría el consumo voluntario (Verité y Journet, 1970). A su vez, el contenido promedio de FDN de las pasturas estuvo del rango (34-36%) que no afectaría el consumo voluntario de MS por efecto del llenado ruminal (Mertens, 1994) y el contenido promedio de PB de las pasturas se ubicó dentro del rango propuesto por Minson (1990) a los fines de obtener elevados coeficientes de digestibilidad de la MS del forraje (15-25%).

Al igual que en el primer ensayo, los valores de disponibilidad registrados y la asignación de forraje utilizada, así como los parámetros de calidad del forraje aparentemente consumido por las vacas, resultaron adecuados a fin de permitir elevados consumos de MS.

2.7.2. Producción y composición de la leche.

La producción de LGC4% y LEC en T7.0 resultó significativamente mayor con respecto a T3.5 y similar a la obtenida en T10.5, mientras que la producción de leche y proteína (total y verdadera) aumentó (+13,6% y +14,9%, respectivamente) con el nivel de suplementación (Cuadro 10). A su vez, la producción de grasa en T10.5 resultó mayor con respecto a T3.5 y similar a la del grupo T7.0, sin diferencias significativas entre T3.5 y T7.0.

Cuadro 10: Producción y composición de leche en vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

| Variable | Tratamiento ¹ | | | EEM | <i>P</i> < | | |
|---|--------------------------|--------------------|--------------------|-------|-------------------|----------------|----------------|
| | T3.5 | T7.0 | T10.5 | | Trat ² | L ³ | C ³ |
| Leche, kg vaca ⁻¹ d ⁻¹ | 30,8 ^c | 33,3 ^b | 35,0 ^a | 1,2 | 0,01 | 0,01 | 0,35 |
| LGC 4%, kg vaca ⁻¹ d ⁻¹ | 26,8 ^b | 29,0 ^a | 30,2 ^a | 1,1 | 0,01 | 0,01 | 0,40 |
| LEC, kg vaca ⁻¹ d ⁻¹ | 26,7 ^b | 29,0 ^a | 30,2 ^a | 1,0 | 0,01 | 0,01 | 0,37 |
| Grasa | | | | | | | |
| kg vaca ⁻¹ d ⁻¹ | 0,97 ^b | 1,05 ^{ab} | 1,08 ^a | 0,04 | 0,02 | 0,01 | 0,51 |
| % | 3,15 | 3,16 | 3,09 | 0,08 | 0,79 | 0,63 | 0,64 |
| Proteína total (PT) | | | | | | | |
| kg vaca ⁻¹ d ⁻¹ | 0,94 ^c | 1,02 ^b | 1,08 ^a | 0,03 | 0,01 | 0,01 | 0,35 |
| % | 3,05 | 3,08 | 3,10 | 0,04 | 0,08 | 0,03 | 0,60 |
| Proteína verdadera (PVe) | | | | | | | |
| kg vaca ⁻¹ d ⁻¹ | 0,87 ^c | 0,95 ^b | 1,00 ^a | 0,03 | 0,01 | 0,01 | 0,32 |
| % | 2,84 | 2,87 | 2,88 | 0,04 | 0,07 | 0,03 | 0,66 |
| Lactosa, % | 4,85 ^b | 4,91 ^a | 4,94 ^a | 0,03 | 0,01 | 0,01 | 0,43 |
| ST, % | 11,73 | 11,84 | 11,82 | 0,11 | 0,57 | 0,42 | 0,50 |
| SNG, % | 8,58 ^b | 8,69 ^a | 8,74 ^a | 0,06 | 0,01 | 0,01 | 0,34 |
| Urea, % | 0,046 ^a | 0,045 ^a | 0,043 ^b | 0,001 | 0,01 | 0,01 | 0,53 |
| Urea:PT | 0,015 ^a | 0,015 ^a | 0,014 ^b | 0,001 | 0,01 | 0,01 | 0,50 |
| Caseína, % | 2,42 ^b | 2,44 ^b | 2,47 ^a | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,62 |
| Caseína:PT | 0,80 | 0,79 | 0,80 | 0,01 | 0,54 | 0,81 | 0,28 |

^{a,b,c}Medias dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (test Tukey-Kramer, $P < 0,05$). ¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Efecto tratamiento. ³Contrastes: L = lineal y C = cuadrático. LGC4% = leche grasa corregida al 4%; LEC = leche energía corregida; ST = sólidos totales; SNG = sólidos no grasos; Urea:PT = relación urea:proteína total; Caseína:PT = relación caseína:proteína total.

Los tenores de grasa y ST y la relación Caseína:PT resultaron similares entre tratamientos y se detectó una tendencia ($P = 0,08$) a un mayor contenido de PT y PVe en T10.5. A su vez, con el mayor nivel de suplementación se obtuvo una mayor concentración de lactosa (lo que ayudaría a explicar la mayor producción de leche obtenida en este tratamiento), conjuntamente con un mayor tenor de caseína y una reducción en el contenido de urea y en la relación urea:PT. Estos resultados estarían indicando una mayor

disponibilidad de glucosa a nivel mamario y un mejor balance energía-proteína en rumen en T10.5, respectivamente. El contenido de SNG resultó significativamente menor en T3.5, sin diferencias entre T7.0 y T10.5.

Los contrastes revelaron incrementos lineales para la mayoría de las variables analizadas ante consumos crecientes de concentrado, excepto para los contenidos de grasa y ST y la relación Caseína:PT. Al igual que en el 1° ensayo, no se detectaron efectos cuadráticos para ninguna de las variables de producción y composición de leche estudiadas.

2.7.3. Consumo de MS y energía.

No se registraron rechazos de concentrado. El consumo de MS de pastura disminuyó (-20,7%), mientras que el de MS total y EN_L aumentaron (+12,6% y +20,7%, respectivamente) con el nivel de concentrado (Cuadro 11). A su vez, la eficiencia de conversión de la MS y la EN_L permaneció constante. Estos resultados sugieren que el incremento en la producción de leche obtenido con niveles crecientes de suplementación estaría asociado a un mayor consumo de MS y energía.

Cuadro 11: Consumo de MS y EN_L en vacas lecheras suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

| Variable | Tratamiento ¹ | | | EEM | $P <^2$ | |
|---|--------------------------|--------------------|--------------------|------|---------|---------|
| | T3.5 | T7.0 | T10.5 | | Trat | Período |
| Pastura | | | | | | |
| MS, kg d ⁻¹ | 17,96 ^a | 16,07 ^b | 14,24 ^c | 0,18 | 0,01 | 0,01 |
| EN_L^3 , Mcal d ⁻¹ | 26,76 ^a | 23,95 ^b | 21,22 ^c | 0,27 | 0,01 | 0,01 |
| Total | | | | | | |
| MS, kg d ⁻¹ | 21,15 ^c | 22,45 ^b | 23,81 ^a | 0,18 | 0,01 | 0,01 |
| EN_L^3 , Mcal d ⁻¹ | 32,95 ^c | 36,33 ^b | 39,78 ^a | 0,27 | 0,01 | 0,01 |
| EG ⁴ , Mcal EN_L d ⁻¹ | 5,69 ^c | 7,91 ^b | 9,93 ^a | 0,05 | 0,01 | 0,01 |
| Eficiencia de conversión | | | | | | |
| Leche kg MS ⁻¹ | 1,48 | 1,52 | 1,52 | 0,06 | 0,36 | 0,04 |
| Leche Mcal EN_L ⁻¹ | 0,95 | 0,94 | 0,91 | 0,04 | 0,13 | 0,04 |
| LEC kg MS ⁻¹ | 1,27 | 1,33 | 1,29 | 0,06 | 0,25 | 0,02 |
| LEC Mcal EN_L ⁻¹ | 0,81 | 0,82 | 0,77 | 0,03 | 0,08 | 0,03 |

^{a,b,c}Medias dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (test Tukey-Kramer, $P < 0,05$). ¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Efectos de tratamiento (Trat) y período. ³Calculado usando NRC (2001). ⁴Energía provista por precursores glucogénicos disponibles a partir del rumen e intestino delgado. Valores de EN_L para pastura y concentrado: 1,49 y 1,94 Mcal kg MS^{-1} , respectivamente.

La tasa de sustitución (kg MS pastura/kg MS concentrado) resultó similar entre tratamientos, con un valor promedio de 0,58.

2.7.4. Variación de peso vivo y condición corporal.

La pérdida de peso vivo y la concentración plasmática de AGNE disminuyeron con el incremento del nivel de suplementación (Cuadros 12 y 13), no observándose efecto tratamiento para el resto de las variables asociadas a la variación de reservas corporales. Sólo las vacas del grupo T10.5 ganaron peso (+157,6% con respecto a T3.5).

Cuadro 12: Variación de peso vivo (ΔPV) y de condición corporal (ΔCC) en vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d^{-1} (T10.5) de concentrado.

| Variable | Tratamiento ¹ | | | EEM | $P <^2$ | |
|---------------------|--------------------------|--------------------|--------------------|------|---------|---------|
| | T3.5 | T7.0 | T10.5 | | Trat | Período |
| PV inicial, kg | 587,1 ^a | 580,8 ^b | 581,5 ^b | 12,2 | 0,05 | 0,01 |
| PV final, kg | 580,5 | 580,7 | 585,4 | 12,8 | 0,08 | 0,01 |
| ΔPV , kg | -6,6 ^b | -0,1 ^{ab} | 3,8 ^a | 2,5 | 0,02 | 0,01 |
| CC inicial, 1 a 5 | 2,50 | 2,46 | 2,43 | 0,06 | 0,18 | 0,02 |
| CC final, 1 a 5 | 2,45 | 2,43 | 2,49 | 0,06 | 0,44 | 0,21 |
| ΔCC , 1 a 5 | -0,05 | -0,03 | 0,06 | 0,04 | 0,13 | 0,02 |

^{a,b}Medias dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (test Tukey-Kramer, $P < 0,05$). ¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Efectos de tratamiento (Trat) y período.

2.7.5. Concentración plasmática de metabolitos y hormonas.

La suplementación con niveles crecientes de concentrado incrementó significativamente la concentración plasmática de IGF-I, resultado compatible con el consumo creciente de energía (Cuadro 11) y el incremento en la producción de leche (Cuadro 10), pero no afectó los valores de glucosa, urea, insulina y GH circulantes (Cuadro 13).

Cuadro 13: Concentración plasmática de metabolitos y hormonas en vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

| Variable | Tratamiento ¹ | | | EEM | <i>P</i> < ² | |
|---------------------------------|--------------------------|----------------------|---------------------|------|-------------------------|---------|
| | T3.5 | T7.0 | T10.5 | | Trat | Período |
| Glucosa (mmol L ⁻¹) | 3,53 | 3,41 | 3,46 | 0,05 | 0,10 | 0,01 |
| Urea (mmol L ⁻¹) | 7,47 | 7,42 | 7,21 | 0,21 | 0,37 | 0,01 |
| AGNE (μEq L ⁻¹) | 265,7 ^a | 240,5 ^{ab} | 227,6 ^b | 12,4 | 0,02 | 0,01 |
| GH (ng ml ⁻¹) | 3,89 | 3,97 | 3,75 | 0,36 | 0,90 | 0,56 |
| Insulina (ng ml ⁻¹) | 0,65 | 0,68 | 0,75 | 0,07 | 0,32 | 0,01 |
| IGF-I (ng ml ⁻¹) | 113,10 ^b | 128,85 ^{ab} | 149,00 ^a | 8,45 | 0,02 | 0,13 |
| Relación GH/Insulina | 8,96 | 7,47 | 6,11 | 1,54 | 0,28 | 0,04 |

^{a,b}Medias dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (test Tukey-Kramer, *P* < 0,05). ¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMean (EEM). ²Efectos de tratamiento (Trat) y período. AGNE = ácidos grasos no esterificados; GH = somatotropina; IGF-I = somatomedina C.

2.7.6. Ambiente y digestión ruminal.

La interacción tratamiento x hora resultó no significativa para todas las variables de ambiente ruminal estudiadas (Cuadro 14). La concentración de acetato y el pH en T10.5 resultaron menores con respecto a T3.5 y similares a T7.0, sin diferencias significativas entre T3.5 y T7.0. A su vez, la proporción molar de propionato aumentó mientras que la proporción de acetato y la relación acetato:propionato disminuyeron con el incremento del nivel de suplementación. Se detectó una tendencia (*P* = 0,07) a una disminución en la concentración de N-NH₃ con niveles crecientes de concentrado.

Cuadro 14: Ambiente ruminal en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

| Variable | Tratamiento ¹ | | | EEM | P < ² | | |
|---------------------------------------|--------------------------|--------------------|-------------------|------|------------------|------|-----------|
| | T3.5 | T7.0 | T10.5 | | Trat | Hora | Trat*hora |
| AGVt (mmol L ⁻¹) | 75,3 | 67,5 | 66,3 | 3,17 | 0,29 | 0,01 | 0,96 |
| Ac (mmol L ⁻¹) | 55,6 ^a | 48,1 ^{ab} | 45,7 ^b | 2,20 | 0,01 | 0,02 | 0,94 |
| Ac (mol 100 mol ⁻¹) | 73,9 ^a | 71,5 ^b | 69,0 ^c | 0,34 | 0,01 | 0,04 | 0,36 |
| Pr (mmol L ⁻¹) | 13,1 | 13,7 | 15,0 | 0,68 | 0,09 | 0,01 | 0,99 |
| Pr (mol 100 mol ⁻¹) | 17,4 ^c | 20,2 ^b | 22,5 ^a | 0,25 | 0,01 | 0,10 | 0,63 |
| Butirato (mmol L ⁻¹) | 6,6 | 5,7 | 5,6 | 0,47 | 0,39 | 0,01 | 0,79 |
| Butirato (mol 100 mol ⁻¹) | 8,7 | 8,3 | 8,4 | 0,20 | 0,46 | 0,05 | 0,13 |
| Ac:Pr | 4,25 ^a | 3,55 ^b | 3,08 ^c | 0,06 | 0,01 | 0,05 | 0,60 |
| pH | 6,20 ^a | 6,02 ^{ab} | 5,94 ^b | 0,07 | 0,04 | 0,16 | 0,89 |
| N_NH ₃ (mg %) | 41,62 | 35,87 | 35,04 | 2,14 | 0,07 | 0,01 | 0,93 |

^{a,b,c}Medias dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (test Tukey-Kramer, $P < 0,05$). ¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Efectos de tratamiento (Trat), hora e interacción tratamiento*hora (Trat*hora). AGVt = ácidos grasos volátiles totales; Ac = acetato; Pr = propionato; Ac:Pr = relación acetato:propionato.

En la Figura 6 se presenta la evolución del pH en rumen durante el período de muestreo.

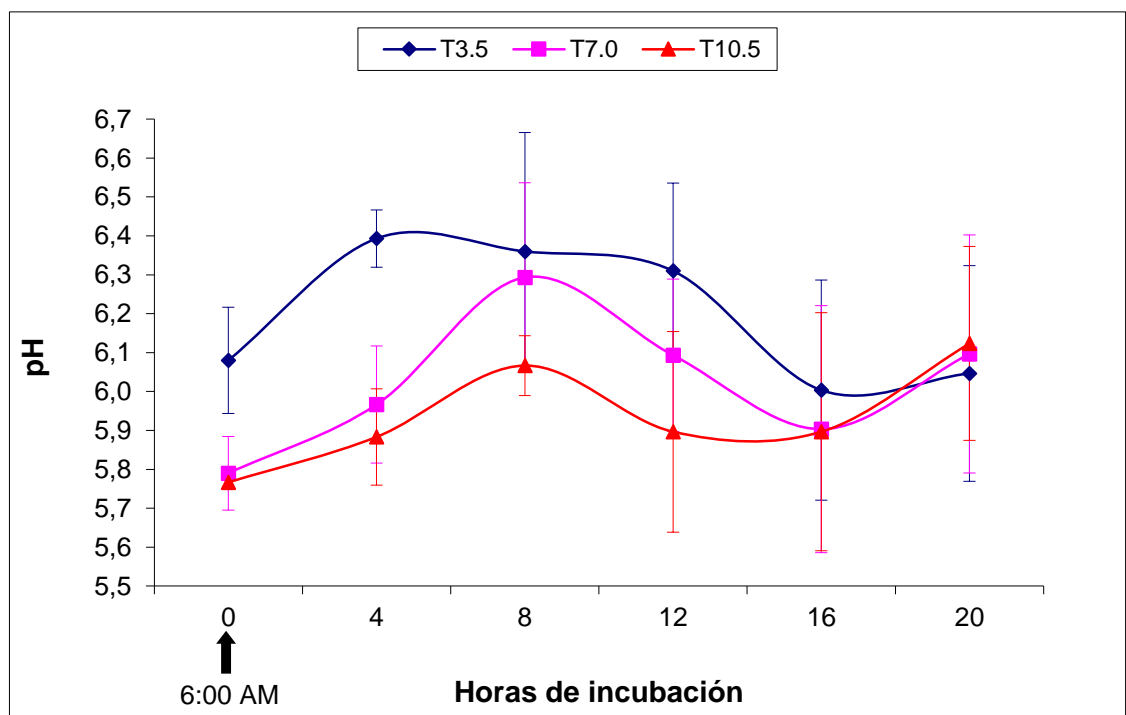


Figura 6: Evolución del pH ruminal en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

Los valores de pH mínimos para las vacas de los grupos T7.0 y T10.5 se registraron a la hora 0 (6:00 h) y fueron 5,79 y 5,77, respectivamente, mientras que para las vacas del tratamiento T3.5 el pH mínimo se registró a la hora 16 (22:00 h) y fue 6,00. A su vez, los valores de pH máximos fueron 6,39 a la hora 4 (10:00 h), 6,29 a la hora 8 (14:00 h) y 6,12 a la hora 20 (2:00 h) para T3.5, T7.0 y T10.5, respectivamente.

Los patrones diarios de concentración de N-NH₃ en rumen resultaron similares entre tratamientos (Figura 7).

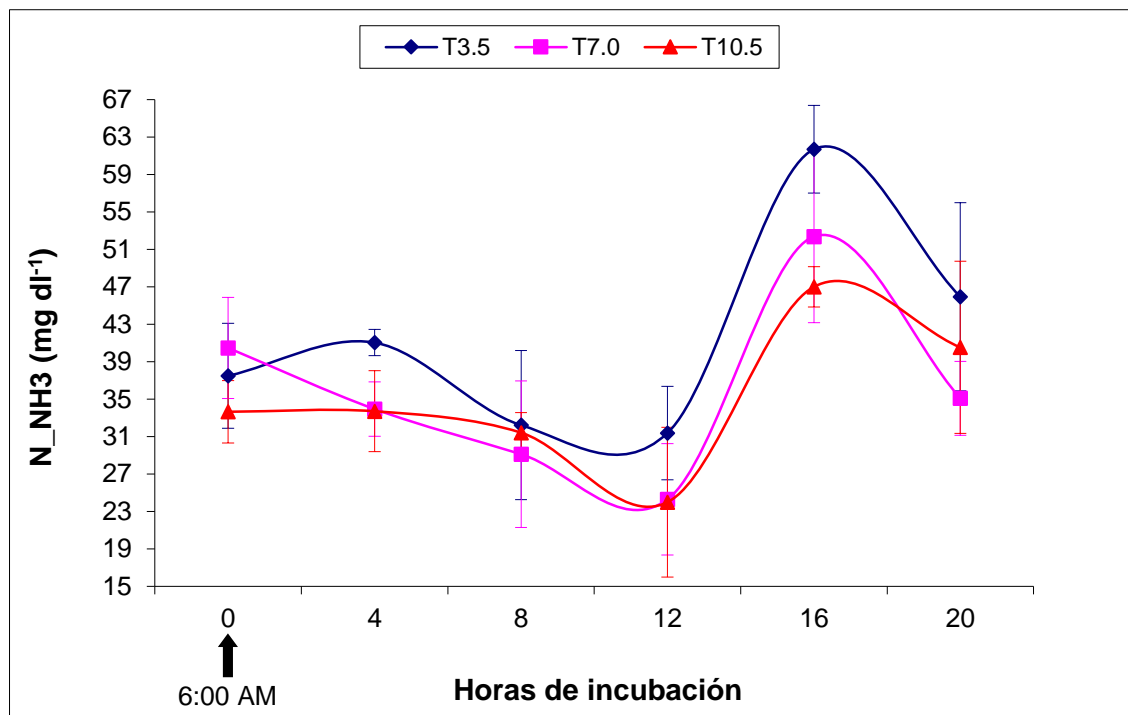


Figura 7: Evolución del N-NH₃ ruminal en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

Las concentraciones mínimas de N-NH₃ para las vacas de los 3 tratamientos se registraron a la hora 12 (18:00 h) y fueron 31,37, 24,28 y 23,98 mg dl⁻¹ para T3.5, T7.0 y T10.5, respectivamente, mientras que los picos máximos se registraron a la hora 16 (22:00 h) y fueron 61,69, 52,37 y 46,99 mg dl⁻¹ para T3.5, T7.0 y T10.5, respectivamente.

Los tratamientos no afectaron ninguno de los parámetros asociados a la desaparición *in situ* del almidón del concentrado (Cuadro 15).

Cuadro 15: Cinética de desaparición ruminal del almidón del concentrado en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

| Variable | Tratamiento ¹ | | | EEM | P < ² | |
|---|--------------------------|-------|-------|------|------------------|---------|
| | T3.5 | T7.0 | T10.5 | | Trat | Período |
| Almidón | | | | | | |
| Fracción soluble (FS) % | 8,44 | 3,04 | 5,88 | 2,20 | 0,10 | 0,02 |
| Fracción insoluble (FI) % | 91,56 | 96,96 | 94,12 | 2,20 | 0,10 | 0,02 |
| Tasa de digestión (kd) % hora ⁻¹ | 6,35 | 6,54 | 6,57 | 0,52 | 0,94 | 0,06 |
| Degradabilidad efectiva ³ | | | | | | |
| kp = 5 % hora ⁻¹ | 58,63 | 56,26 | 58,45 | 2,45 | 0,77 | 0,06 |

¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Efectos de tratamiento (Trat) y período. ³Asumiendo una tasa de pasaje (kp) de 5 % hora⁻¹ (Van Vuuren et al., 1992).

En la Figura 8 se ilustran las curvas de desaparición del almidón del concentrado en los 3 tratamientos en función a las horas de incubación en el rumen. Las ecuaciones utilizadas para graficarlas fueron:

$$T3.5: p = 8,44 + 91,56 (1 - e^{-(0,0635 * t)})$$

$$T7.0: p = 3,04 + 96,96 (1 - e^{-(0,0654 * t)})$$

$$T10.5: p = 5,88 + 94,12 (1 - e^{-(0,0654 * t)})$$

y se basaron en el modelo de Ørskov y McDonald (1979): $p = FS + FI (1 - e^{-(kd * t)})$, descrito en materiales y métodos.

En concordancia con la ausencia de efecto tratamiento para los parámetros que describen la cinética de digestión ruminal, se observa que los perfiles de desaparición ruminal del almidón del concentrado a lo largo del tiempo de incubación resultaron similares entre tratamientos.

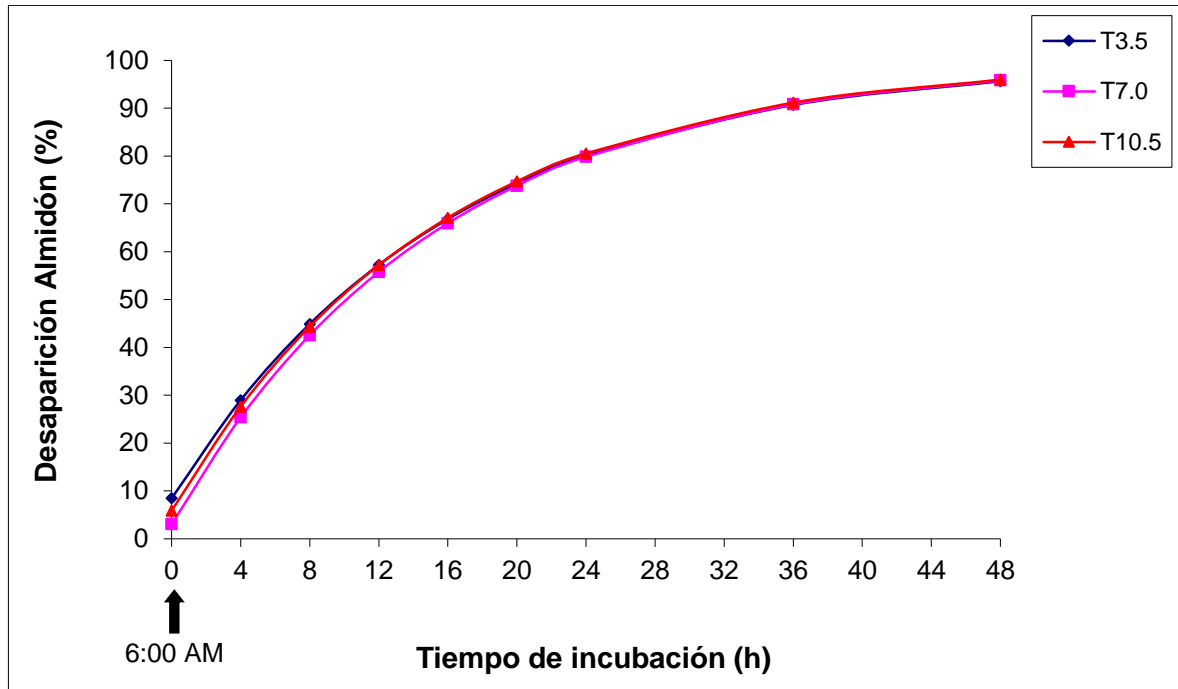


Figura 8: Desaparición del almidón en función del tiempo de incubación en rumen en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

La suplementación con niveles crecientes de concentrado energético no produjo cambios significativos en ninguno de los parámetros asociados a la desaparición *in situ* de la PC del forraje, excepto el tiempo de retardo en el inicio de la digestión de la PC que resultó significativamente menor en T7.0 y T10.5 con respecto a T3.5 (Cuadro 16).

Cuadro 16: Cinética de desaparición ruminal de la pared celular (PC) del forraje en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

| Variable | Tratamiento ¹ | | | EEM | $P <^2$ | |
|--------------------------------------|--------------------------|-------------------|-------------------|------|---------|---------|
| | T3.5 | T7.0 | T10.5 | | Trat | Período |
| PC | | | | | | |
| FPDPC (%) | 66,38 | 57,83 | 55,96 | 3,44 | 0,28 | 0,26 |
| TFDPC (% hora ⁻¹) | 6,94 | 8,09 | 9,33 | 1,90 | 0,72 | 0,51 |
| TRIDPC (horas) | 3,64 ^a | 2,40 ^c | 3,07 ^b | 0,45 | 0,01 | 0,01 |
| Degradabilidad efectiva ³ | | | | | | |
| kp = 5 % hora ⁻¹ | 30,63 | 30,98 | 30,11 | 1,89 | 0,94 | 0,09 |

^{a,b,c}Medias dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (test Tukey-Kramer, $P < 0,05$). ¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el

error estándar de las LSMeans (EEM). ²Efectos de tratamiento (Trat) y período. ³Asumiendo una tasa de pasaje (kp) de 5 % hora⁻¹ (Van Vuuren *et al.*, 1992). FPDPC = Fracción potencialmente digestible de la PC; TFDPC = Tasa fraccional de digestión de la PC; TRIDPC = Tiempo de retardo en el inicio de la digestión de la PC.

A pesar de la disminución del pH con el incremento del consumo de concentrado, la degradabilidad efectiva de la PC del forraje resultó similar entre tratamientos.

En la Figura 9 se presentan las curvas de desaparición de la PC del forraje en función al tiempo de incubación en el rumen. Las ecuaciones utilizadas para graficarlas fueron:

$$\text{T3.5: Desaparición PC (\%)} = 100 - (Y = 66,38 * e^{-(0,0694 * (t - 3,64))} + 33,62)$$

$$\text{T7.0: Desaparición PC (\%)} = 100 - (Y = 57,83 * e^{-(0,0809 * (t - 2,40))} + 42,17)$$

$$\text{T10.5: Desaparición PC (\%)} = 100 - (Y = 55,96 * e^{-(0,0933 * (t - 3,07))} + 44,04)$$

y se basaron en el modelo de Mertens y Loften (1980): $Y = \text{FPDPC} * e^{-(\text{TFDPC} * (t - \text{TRIDPC}))} + \text{FIPC}$, descrito en materiales y métodos.

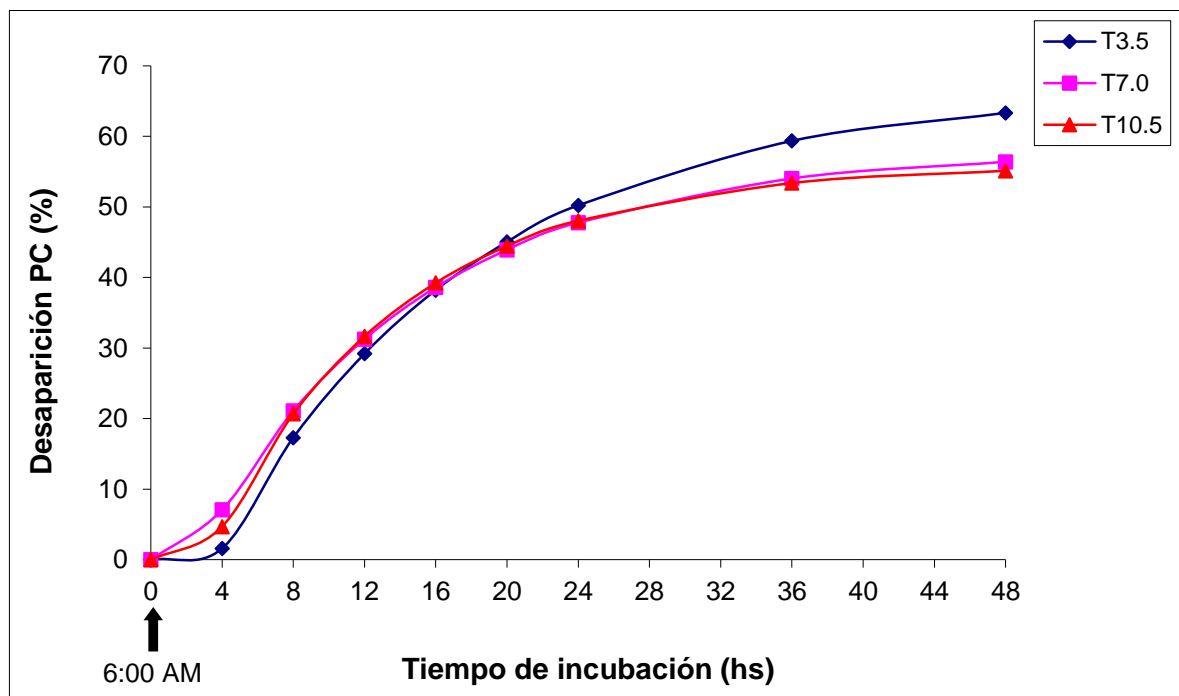


Figura 9: Desaparición de la pared celular (PC) del forraje en función del tiempo de incubación en rumen en vacas fistuladas en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

Los perfiles de desaparición ruminal acumulada de la PC del forraje resultaron similares entre tratamientos hasta las 20 horas de incubación, sin embargo, la degradabilidad ruminal de la FDN de la pastura a las 48 horas de incubación resultó mayor en T3.5 (63,3%) con respecto a T7.0 y T10.5 (55,8%).

2.7.7. Valor funcional de la leche.

Las concentraciones de los AG C_{10:0} (cáprico), C_{12:0} (láurico) y C_{18:2 n6} (linoleico) resultaron significativamente mayores en T10.5, sin diferencias entre T3.5 y T7.0, mientras que la concentración de C_{18:3 n3} (linolénico) disminuyó y la relación AG poliinsaturados n-6:n-3 aumentó con el incremento del nivel de suplementación (Cuadro 17). El resto de los AG permanecieron sin cambios.

Cuadro 17: Concentración de ácidos grasos (AG) en la leche de vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

| AG, % | Tratamiento ¹ | | | EEM | P < ² |
|-----------------------------------|--------------------------|--------------------|-------------------|-------|------------------|
| | T3.5 | T7.0 | T10.5 | | |
| C _{4:0} | 4,60 | 4,36 | 4,37 | 0,06 | 0,13 |
| C _{6:0} | 2,67 | 2,60 | 2,60 | 0,06 | 0,07 |
| C _{8:0} | 1,45 | 1,44 | 1,48 | 0,05 | 0,07 |
| C _{10:0} | 2,96 ^b | 3,00 ^b | 3,09 ^a | 0,10 | 0,02 |
| C _{10:1} | 0,33 | 0,33 | 0,35 | 0,02 | 0,17 |
| C _{12:0} | 3,52 ^b | 3,60 ^{ab} | 3,71 ^a | 0,11 | 0,04 |
| C _{13:0} | 0,12 | 0,11 | 0,12 | 0,005 | 0,50 |
| C _{14:0} | 12,17 | 12,12 | 12,38 | 0,19 | 0,65 |
| C _{14:1 c9} | 0,94 | 0,96 | 1,02 | 0,03 | 0,35 |
| C _{15:0} | 1,37 | 1,26 | 1,26 | 0,03 | 0,15 |
| C _{15 iso} | 0,26 | 0,28 | 0,25 | 0,01 | 0,34 |
| C _{16:0} | 28,36 | 27,47 | 27,47 | 0,61 | 0,27 |
| C _{16:1 c9} | 1,53 | 1,48 | 1,50 | 0,02 | 0,51 |
| C _{17:0} | 0,72 | 0,68 | 0,64 | 0,01 | 0,09 |
| C _{18:0} | 9,62 | 9,97 | 9,58 | 0,17 | 0,38 |
| C _{18:1 t11 (AV)} | 3,31 | 3,27 | 2,99 | 0,21 | 0,26 |
| C _{18:1 c9} | 16,79 | 17,49 | 17,71 | 0,24 | 0,21 |
| C _{18:2 n6} | 2,04 ^b | 2,24 ^b | 2,56 ^a | 0,06 | 0,03 |
| C _{18:3 n3} | 1,30 ^a | 1,07 ^b | 0,93 ^c | 0,04 | 0,02 |
| CLA c9, t11 (AR) | 1,18 | 1,16 | 1,15 | 0,08 | 0,75 |
| C _{22+C20:4 n6+C20:3 n3} | 0,22 | 0,23 | 0,21 | 0,01 | 0,53 |
| AG saturados (AGS) | 44,04 | 43,18 | 43,55 | 0,63 | 0,60 |

| | | | | | |
|---------|-------------------|-------------------|-------------------|------|------|
| n-6:n-3 | 1,56 ^c | 2,10 ^b | 2,77 ^a | 0,05 | 0,01 |
|---------|-------------------|-------------------|-------------------|------|------|

^{a,b,c}Medias dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (test Tukey-Kramer, $P < 0,05$). ¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Efecto tratamiento. AV = ácido vaccénico; AR = ácido ruménico; AGS = C_{12:0} a C_{16:0}; n6:n3= relación C_{18:2 n6}:C_{18:3 n3}.

La suplementación con niveles crecientes de concentrado no alteró la fracción hipercolesterolémica de la grasa láctea (C_{12:0} a C_{16:0}) ni provocó cambios en el contenido de vitaminas antioxidantes (Cuadro 18), pese a la disminución en el consumo de MS de alfalfa (-21 % entre T3.5 y T10.5).

Cuadro 18: Concentración de vitaminas en la grasa butirosa (GB) de vacas lecheras en pastoreo suplementadas con 3,5 (T3.5), 7,0 (T7.0) y 10,5 kg d⁻¹ (T10.5) de concentrado.

| Variable | Tratamiento ¹ | | | EEM | $P <^2$ |
|--|--------------------------|-------|-------|------|---------|
| | T3.5 | T7.0 | T10.5 | | |
| Concentración, $\mu\text{g g GB}^{-1}$ | | | | | |
| Retinol | 5,45 | 5,62 | 4,97 | 0,67 | 0,55 |
| α -tocoferol | 36,63 | 41,94 | 36,83 | 1,99 | 0,30 |
| γ -tocoferol | 0,67 | 1,12 | 1,11 | 0,11 | 0,16 |
| β -caroteno | 4,73 | 7,12 | 5,99 | 0,41 | 0,07 |

¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Efecto tratamiento.

2.8. DISCUSIÓN ENSAYO 2

2.8.1. Producción y composición de la leche.

La producción de leche incrementó linealmente con los niveles de suplementación (Cuadro 10), resultado similar al informado por Bargo *et al.* (2003) en su trabajo de revisión para vacas de alto potencial produciendo más de 28 kg día⁻¹ suplementadas con niveles crecientes de concentrado en un rango de 1,8 a 10 kg MS día⁻¹. Las vacas del presente trabajo suplementadas con 10,5 kg de concentrado produjeron 5,1% y 13,6% más leche que aquellas suplementadas con 7,0 y 3,5 kg de concentrado, respectivamente. Cuando el ensilaje de pastura fue la única fuente de forraje, un análisis global de resultados obtenidos bajo condiciones de alimentación controlada en vacas produciendo entre 27 y 30 kg día⁻¹, mostró que la máxima respuesta en producción de leche se obtuvo cuando el consumo de energía glucogénica representó alrededor del 25-30% de la EN_L total consumida (Rigout *et al.*, 2003). En este estudio, el tratamiento T10.5 presentó la mayor proporción de energía glucogénica absorbida a partir de la dieta (25% del consumo de EN_L), valor que se ubica dentro del rango óptimo propuesto por Rigout *et al.* (2003), lo que contribuiría a explicar la mayor producción de leche observada en dicho tratamiento. La disponibilidad de energía glucogénica parece haber limitado la producción de leche en los tratamientos T3.5 y T7.0. Las respuestas en producción de leche por unidad de concentrado suplementado fueron 0,78 y 0,66 kg leche kg MS concentrado⁻¹, para T7.0 y T10.5, respectivamente y se ubicaron dentro del rango de valores (0,60 a 1,45 kg leche kg MS concentrado⁻¹) citado por Bargo *et al.* (2003).

En condiciones pastoriles de alimentación, la suplementación con concentrados almidonosos frecuentemente incrementa el tenor proteico de la leche (Bargo *et al.*, 2003; Kellaway y Harrington, 2004). Este incremento estaría asociado a un aumento en la disponibilidad de propionato (principal precursor glucogénico) en rumen y a una mayor producción de proteína microbiana, lo cual resulta en una incrementada disponibilidad de aminoácidos en el intestino delgado. Rigout *et al.* (2003) reportaron incrementos lineales en la concentración proteica de la leche (+0,04%) por Mcal extra de energía glucogénica consumida en un rango de 4 a 12 Mcal día⁻¹. De acuerdo a los consumos de energía glucogénica teóricamente alcanzados en el presente ensayo (Cuadro 11), un incremento en el contenido proteico de la leche hubiese sido esperable. Se detectó una tendencia ($P =$

0,08) a un mayor contenido de proteína en T10.5 (Cuadro 10). La ausencia de un incremento significativo en el contenido proteico de la leche podría explicarse por un efecto de dilución cuando la producción de leche fue incrementada. La producción de proteína, en cambio, incrementó linealmente con los niveles de suplementación (Cuadro 10), como fue reportado por Reis y Combs (2000).

Si bien se ha informado una disminución lineal en el porcentaje de grasa butirosa ante niveles crecientes de suplementación con concentrado en condiciones de pastoreo (Bargo *et al.*, 2003), en este estudio dicho efecto no fue observado (Cuadro 10). Walker *et al.* (2001) reportaron una reducción significativa en la concentración y producción de grasa butirosa de vacas lecheras en pastoreo cuando el consumo de concentrado superó el 50% del consumo total de MS, pero en el presente ensayo el máximo consumo de concentrado representó tan sólo un 40% de la MS total consumida (Cuadro 11).

El principal factor que afecta el contenido de grasa de la leche es el nivel de fibra en la dieta (Kellaway y Porta, 1993). Un bajo contenido de fibra reduce la salivación, llevando a una disminución en los valores de pH ruminal. Esto modifica la orientación de las fermentaciones ruminales reduciendo la producción de acetato (principal precursor de los ácidos grasos sintetizados *de novo* en la glándula mamaria) y aumentando la de propionato. En este estudio, los valores de pH ruminal, la concentración de acetato y la relación acetato:propionato en rumen disminuyeron con el incremento del nivel de suplementación (Cuadro 14), sin embargo los tenores de grasa en leche resultaron similares entre tratamientos (Cuadro 10). Cuando las raciones para vacas lecheras contienen un mínimo de 25% de FDN con 16% de FDN proveniente del forraje, el contenido de grasa butirosa no resulta afectado (NRC, 2001). El contenido de FDN total en la dieta de las vacas que consumieron la mayor dosis de concentrado (T10.5) promedió 28% con 20,8% de FDN proveniente del forraje. Este nivel de FDN aparentemente fue suficiente para prevenir una caída en el contenido de grasa butirosa. La producción de grasa, en cambio, resultó significativamente mayor en T10.5 (+110 g día⁻¹) con respecto a T3.5 (Cuadro 10), en coincidencia con Bargo *et al.* (2003) quienes informaron que bajo condiciones de pastoreo la suplementación con concentrado (hasta 10 kg MS día⁻¹) aumentó la producción de grasa 0,10 kg día⁻¹.

El contenido de lactosa incrementó linealmente con el consumo de concentrado (Cuadro 10), lo que contribuiría a explicar el incremento lineal en producción de leche observado.

En línea con este resultado, estudios previos bajo condiciones de alimentación controlada utilizando ensilaje de pastura como forraje de base, mostraron que un aumento en la disponibilidad de precursores glucogénicos (principalmente glucosa) resultó clave para maximizar la síntesis de lactosa (Rigout, Lemosquet, van Eys *et al.*, 2002; Rigout *et al.*, 2003; Lemosquet *et al.*, 2004).

La ausencia de cambios en la producción de LGC4% y LEC cuando el nivel de suplementación superó el 28% de la MS total consumida (Cuadro 10) no estuvo aparentemente explicada por la sustitución de pastura por concentrado, dado que la tasa de sustitución (kg MS pastura/kg MS concentrado) resultó similar entre tratamientos (0,59 y 0,58 para T7.0 y T10.5, respectivamente), ni por una reducción en la digestión ruminal de la FDN del forraje (Cuadro 16) como sugirieron García y Fulkerson (2005), ni por una caída en el tenor graso de la leche (Cuadro 10).

El contenido de caseína aumentó y el de urea disminuyó con el incremento de los niveles de suplementación (Cuadro 10). Estos resultados son similares a los reportados por Bargo *et al.* (2002a) y por Reis y Combs (2000), quienes sugirieron que el consumo de concentrados almidonosos mejoró la utilización del nitrógeno en los animales suplementados. En el presente estudio, la concentración de N-NH₃ en rumen tendió ($P = 0,07$) a disminuir con niveles crecientes de concentrado (Cuadro 14), lo que contribuiría a explicar la reducción observada en el contenido de urea en leche.

2.8.2. Consumo de MS y energía.

Bargo *et al.* (2003) reportaron que incrementando el consumo de concentrado desde 1,8 hasta 10,4 kg MS día⁻¹, se redujo el consumo de MS de pastura (-1,9 kg día⁻¹) y se incrementó el consumo de MS total (+3,6 kg día⁻¹) comparado con dietas exclusivamente pastoriles. En línea con estos resultados, el consumo de MS de pastura disminuyó (-3,7 kg día⁻¹) y el de MS total aumentó (+2,7 kg día⁻¹) en T10.5 vs. T3.5 (Cuadro 11).

Se ha postulado que la tasa de sustitución generalmente aumenta con consumos crecientes de concentrado (Kellaway y Porta, 1993), aunque según Bargo *et al.* (2003) esta relación general es inconsistente para vacas lecheras de alta producción, en línea con las similares tasas de sustitución registradas en este estudio (0,59 y 0,58 kg MS pastura kg MS concentrado⁻¹ para T7.0 y T10.5, respectivamente).

Una de las principales hipótesis propuestas para explicar un aumento en la tasa de sustitución es la ocurrencia de efectos asociativos negativos en el rumen de las vacas suplementadas, llevando a una reducción de la tasa de digestión de la fibra del forraje y por lo tanto del consumo de MS proveniente de la pastura (Dixon y Stockdale, 1999). En el presente ensayo, las dosis crecientes de concentrado suministrado a las vacas no parecieron afectar ni la degradabilidad ni la tasa de digestión de la pared celular del forraje (Cuadro 16), lo que contribuiría a explicar la ausencia de efecto tratamiento sobre la tasa de sustitución.

El consumo de EN_L total incrementó significativamente con el nivel de suplementación (Cuadro 11). Este resultado se debe a que el aumento estimado en el consumo de EN_L proveniente del concentrado (6,19 y 12,38 Mcal d⁻¹ para T7.0 y T10.5, respectivamente) resultó mayor que la disminución en el consumo de EN_L derivado de la pastura (-2,8 y -5,5 Mcal d⁻¹ para T7.0 y T10.5, respectivamente), sugiriendo un efecto predominantemente aditivo de la suplementación.

La eficiencia de conversión de la MS y la EN_L resultó similar entre tratamientos (Cuadro 11). Estos resultados son similares a los reportados por Wales (2005), en Beever y Doyle (2007), quien sugirió que la falta de respuesta en la eficiencia de conversión estaría explicada por las elevadas tasas de sustitución registradas. En el presente estudio, la tasa de sustitución resultó similar entre tratamientos, pero es importante destacar que en T3.5 las vacas aparentemente movilizaron reservas corporales para sostener la producción de leche (Cuadro 12), lo que podría haber enmascarado las diferencias reales en la eficiencia de conversión.

2.8.3. Variación de peso vivo y condición corporal y concentración plasmática de metabolitos y hormonas.

En sintonía con lo informado previamente por otros autores (Dillon *et al.*, 2002; Delaby y Peyraud, 2003; Horan *et al.*, 2005; McEvoy *et al.*, 2008), la ganancia de PV incrementó significativamente con el consumo de concentrado (Cuadro 12). Aunque el diseño crossover podría haber atenuado las diferencias reales entre tratamientos, indicadores dinámicos del balance energético tales como la concentración plasmática de AGNE son útiles para hacer inferencias sobre los cambios en las reservas corporales cuando se utilizan períodos experimentales reducidos (Bargo *et al.*, 2002a). En el presente estudio, los niveles

circulantes de AGNE disminuyeron con el consumo de concentrado (Cuadro 13), sugiriendo una menor lipomovilización. Este resultado es compatible con el incremento en la ganancia de PV observado, indicando que los animales no utilizaron toda la energía adicional consumida para aumentar la producción de leche, sino que una parte fue derivada también a la reconstitución de reservas corporales.

A pesar de la mayor energía glucogénica teóricamente absorbida cuando el consumo de concentrado aumentó (Cuadro 11), las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina permanecieron sin cambios (Cuadro 13) y los niveles circulantes de glucosa se mantuvieron dentro de los rangos de referencia (2,5 a 4,16 mmol L⁻¹), resultado coincidente con la observación que indica que la glucemia de los bovinos se mantiene dentro de los niveles fisiológicos normales con leves variaciones estacionales, producto del potente mecanismo de control homeostático hormonal (Noro *et al.*, 2006).

La producción hepática de IGF-I esta positivamente correlacionada con el consumo de energía y con los niveles de GH en plasma (McGuire *et al.*, 1998). La acción de la GH sobre la glándula mamaria estaría mediada por la IGF-I (McGuire *et al.*, 1998), que parece ser un potente mitógeno para las células epiteliales de la glándula mamaria y puede contribuir a mejorar la producción de leche (Cohick, 1998). La suplementación con niveles crecientes de concentrado incrementó significativamente la concentración plasmática de IGF-I (Cuadro 13). Este aumento no fue acompañado por un incremento en los tenores de GH, pero resultó compatible con el consumo creciente de energía y el incremento en la producción de leche.

El consumo de niveles crecientes de concentrado tendió ($P = 0,07$) a disminuir la concentración de N-NH₃ en rumen (Cuadro 14) y redujo el contenido de urea en leche (Cuadro 10), pero los niveles de urea en plasma permanecieron sin cambios (Cuadro 13). Según Radostits *et al.* (2006), las concentraciones de urea plasmática serían de escasa relevancia metabólica ya que en ganado bovino el rango de uremia considerado como normal es muy amplio y oscila entre 37 a 169 mg dl⁻¹. Los valores de urea plasmática registrados en el presente ensayo se ubicaron en el límite inferior de dicho rango (44,9, 44,6 y 43,3 mg dl⁻¹, para T3.5, T7.0 y T10.5, respectivamente).

2.8.4. Ambiente y digestión ruminal.

Una disminución del pH ruminal resulta un efecto esperable en la medida que se incrementa el consumo de concentrados almidonosos en vacas lecheras en pastoreo (Bargo *et al.*, 2003) debido a una modificación en la producción y composición de AGV y una reducción de la capacidad buffer ruminal (Owens y Goetsch, 1988, en Kolver y de Veth, 2002). Coincidentemente, en el presente trabajo el pH ruminal disminuyó con el consumo de niveles crecientes de concentrado (Cuadro 14).

El pH ruminal de vacas lecheras en pastoreo varía marcadamente durante el día como resultado de los pronunciados patrones de consumo y cuando consumen pasturas de alta digestibilidad el pH ruminal promedio es frecuentemente menor a 6,0 (Wales *et al.*, 2006). A su vez, la magnitud de estas variaciones es mayor cuando las vacas son suplementadas con concentrado dos veces por día durante el ordeño (Doyle *et al.*, 2005). En sintonía con estas observaciones, en este estudio el pH ruminal varió durante el día, llegando a valores menores a 6,0 en los grupos de vacas que consumieron más concentrado (5,79 y 5,77 para T7.0 y T10.5, respectivamente, Figura 6).

En línea con lo reportado por estudios previos (Bargo *et al.*, 2002a; Reis y Combs, 2000; Leddin *et al.*, 2010), la suplementación con niveles crecientes de concentrado tendió ($P = 0,07$) a disminuir la concentración de N-NH₃ en rumen (Cuadro 14), resultado compatible con la reducción observada en el contenido de urea en leche (Cuadro 10). Esta respuesta podría explicarse por una mejor utilización del nitrógeno por parte de las bacterias ruminales, ya que el consumo de PB total resultó similar entre tratamientos (5,20 kg día⁻¹, $P = 0,10$).

Los patrones diarios de concentración de N-NH₃ en rumen resultaron similares en los tres tratamientos, registrándose los picos máximos a las 22:00 h (Figura 7), reflejando una importante proteólisis ruminal, probablemente como resultado de un elevado consumo de pastura al atardecer conforme a lo reportado por Chilibroste *et al.* (2015).

La concentración total de AGV no fue afectada por los tratamientos (Cuadro 14), resultado consistente con lo informado por Bargo *et al.* (2003) en su exhaustiva revisión. La suplementación con concentrados almidonosos generalmente incrementa la proporción molar de propionato y reduce la de acetato, alterando la relación acetato:propionato (Bargo *et al.* 2003; Wales y Doyle, 2003; Leddin *et al.*, 2010), resultados similares a los observados

en este estudio (Cuadro 14). Estos cambios fueron esperados, ya que el propionato es el principal producto final de la fermentación del almidón.

Bargo *et al.* (2003) reportaron que la suplementación con concentrados a base de grano de maíz no afectó la digestión ruminal *in situ* de la pastura. Solo cuando el nivel de suplementación superó los 8 kg MS día⁻¹, se redujo la tasa de digestión de la MS y de la FDN de la pastura, indicando la existencia de efectos asociativos negativos a nivel ruminal. En el presente trabajo, la tasa de digestión de la FDN de la pastura no resultó afectada aun con niveles de suplementación superiores a los 8 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹ (Cuadro 16), resultado compatible con la ausencia de efectos negativos sobre el contenido de grasa butirosa (Cuadro 10). De Veth y Kolver (2001) informaron que la digestión ruminal de la fibra de una pastura de alta calidad no resultó afectada cuando el pH ruminal promedio fue $\geq 5,8$. El pH ruminal promedio registrado en T10.5 (5,94, Cuadro 14) resultó superior al valor umbral mencionado y contribuiría a explicar la ausencia de efecto tratamiento sobre la degradabilidad de la pared celular del forraje.

En pasturas base alfalfa de primavera, el aporte de niveles crecientes de concentrado energético provocó una disminución de la relación acetato:propionato y del pH ruminal, sin afectar negativamente la digestión de la fibra del pasto ni el tenor graso de la leche.

2.8.5. Valor funcional de la leche.

El rasgo más notable en el presente trabajo fue que el incremento en el consumo de concentrado, hasta un 40% de la MS total consumida, no afectó el contenido total de ácido vaccénico (VA) o ácido ruménico (AR) de la leche. Las concentraciones promedio de AR obtenidas (1,16 g/100 AG, Cuadro 17) resultaron similares al valor promedio reportado por Castillo *et al.* (2006) para vacas lecheras pastoreando alfalfa (1,2 g/100 AG). Este resultado es destacable porque el AR (*cis*-9, *trans*-11 C_{18:2}) juega un rol importante en la regulación de los lípidos plasmáticos y las funciones cardiovasculares, reduciendo la incidencia de cáncer e inhibiendo el crecimiento tumoral y la metástasis del cáncer de mamas (Parodi, 1999). De hecho, el AV (*trans*-11 C_{18:1}) es el principal AG trans en la leche y precursor de AR en la glándula mamaria y otros tejidos por la actividad de la enzima delta-9 desaturasa. El AV también puede tener propiedades anticancerígenas y puede ser metabolizado por los humanos a AR (Stanton *et al.*, 2003).

Estudios previos reportaron que la suplementación con concentrados energéticos a vacas lecheras en condiciones de pastoreo redujo los contenidos de AV y AR de la leche con respecto a las vacas no suplementadas (Stockdale *et al.*, 2003; Wijesundera *et al.*, 2003; Bargo *et al.*, 2006). Este efecto podría explicarse por una disminución en el consumo de pastura, debido al efecto sustitutivo provocado por el consumo de concentrado, llevando a un menor consumo de ácido linolénico (principalmente ácido α -linolénico, $C_{18:3n-3}$) precursor de AV en rumen. En este trabajo, la menor participación de la pastura en la ración total consumida por las vacas en T10.5 (59,8%) en comparación con T3.5 (84,9%), no resultó suficiente para detectar diferencias significativas en el contenido de AV y AR. Cambios en el suministro de sustrato y en el grado de biohidrogenación ruminal afectan el aporte de productos intermedios y finales de la biohidrogenación, afectando así la concentración de AR en la leche (Dhiman, Helmink *et al.*, 1999). A su vez, el grado de biohidrogenación depende en parte del tiempo de retención del alimento en el rumen. A medida que aumenta el consumo de MS, aumenta la tasa de pasaje del alimento y por ende disminuye el tiempo de retención en el rumen (NRC, 2001). En el presente estudio, incrementos en la tasa de pasaje con el nivel de suplementación podrían esperarse como consecuencia de los mayores consumos de MS observados (Cuadro 11), llevando a reducciones en el grado de biohidrogenación ruminal de los PUFA contenidos en la dieta, lo cual contribuiría a explicar en parte la ausencia de efecto tratamiento sobre los contenidos de AV y AR. A su vez, al aumentar la suplementación, el consumo de precursores provenientes del concentrado (particularmente $C_{18:2n-6}$ proveniente del maíz y la harina de soja) podría haber compensado la disminución en el consumo de $C_{18:3n-3}$ proveniente de la pastura, lo cual ayudaría a explicar también la ausencia de efectos sobre los contenidos de AV y AR de la leche.

Tal como se esperaba, la suplementación con niveles crecientes de concentrado redujo el contenido de $C_{18:3n-3}$ e incrementó el de $C_{18:2n-6}$ y la relación n-6:n-3 (Cuadro 17), aunque esta última permaneció dentro de los niveles recomendados para una dieta saludable (< 4:1; Simopoulos, 2004) aun en T10.5 (2,8:1). Resultados similares fueron reportados por estudios previos (Wijesundera *et al.*, 2003; Bargo *et al.*, 2006) y podrían explicarse por una disminución en el consumo de MS de pastura llevando a un menor consumo de $C_{18:3n-3}$ y una posible inhibición de la lipólisis ruminal provocada por una reducción del pH ruminal

llevando a que el C_{18:2n-6} contenido en el concentrado escape de la biohidrogenación ruminal.

Es importante señalar que el contenido de AGS (C12:0 a C16:0) permaneció sin cambios (Cuadro 17), especialmente a causa de su asociación con un mayor riesgo de enfermedades cardíacas (Stanton *et al.*, 2003; Chilliard y Ferlay, 2004).

El contenido de vitaminas antioxidantes tampoco resultó afectado por los tratamientos (Cuadro 18). Además, las concentraciones promedio de β -caroteno y retinol en el presente trabajo fueron similares a las encontradas por (Lerch *et al.*, 2015) en vacas lecheras alimentadas con ensilaje de maíz como forraje base y suplementadas con semilla de lino extrusada ($5,95 \pm 1,20$ vs. $6,38 \pm 0,50$ y $5,35 \pm 0,34$ vs. $7,31 \pm 0,44 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) pero el contenido de α -tocoferol resultó mayor ($38,47 \pm 3,01$ vs. $8,27 \pm 4,78 \mu\text{g g}^{-1}$), probablemente debido a la alimentación basada en pasturas como se demostró previamente (Rossetti *et al.*, 2010). En condiciones no limitantes de consumo de pastura, la suplementación con niveles crecientes de concentrado no afectó el potencial antioxidante de la leche.

2.9. CONCLUSIONES ENSAYO 2

En las condiciones del presente trabajo, el consumo de niveles crecientes de concentrado energético provocó incrementos en la producción de leche cuando los mismos representaron entre el 15 y el 40% de la MS total consumida por vacas en pastoreo de alfalfa de buena calidad produciendo 31-35 kg de leche por día. Los resultados sugieren efectos predominantes de adición en el consumo de MS y energía ante el aporte de concentrados aun cuando la oferta de pastura resultó elevada. La ausencia de cambios en la producción de leche corregida por grasa o por energía cuando el nivel de suplementación superó el 28% de la MS total consumida no estuvo aparentemente explicada por una depresión en la digestión ruminal de la fibra ni por una caída en el tenor graso de la leche. Al igual que en el 1° ensayo, la cantidad y naturaleza de la energía adicional consumida no parece ser una herramienta efectiva para incrementar el tenor proteico de la leche pero si para obtener una mayor concentración de caseínas y producción de proteína láctea. El aumento de la ganancia de peso ante consumos crecientes de concentrado resultó compatible con la reducción de los niveles circulantes de AGNE y la reducción en la relación ruminal acetato:propionato pero no con la ausencia de incrementos en la concentración plasmática de insulina o decrementos en la relación GH/insulina, parámetros que no fueron alterados por los niveles de suplementación. Las ligeras variaciones observadas en el perfil de ácidos grasos y la ausencia de efectos sobre la calidad antioxidante de la leche sugieren que consumos de hasta un 40% de concentrados almidonosos no alteran de manera importante el valor saludable del producto cuando la base forrajera está integrada por pasturas base alfalfa de calidad.

2.10. CONCLUSIONES GENERALES

Tomados en conjunto, los resultados indican la predominancia de efectos de adición en el consumo de materia seca y de energía cuando se usan niveles crecientes de concentrados almidonosos en la suplementación de vacas lecheras que utilizan pasturas de calidad con ofertas no limitantes del consumo. Esta estrategia de alimentación implica un incremento teórico en la absorción de energía glucogénica que no se traduce en incrementos de la concentración proteica de la leche. Resulta en cambio una herramienta predisponente a obtener una mayor producción de proteína láctea y caseínas con disminuciones del tenor ureico en leche y de la concentración amoniacal en rumen. El tenor graso de la leche no resultaría negativamente afectado y permanece estable en un amplio rango de consumo de concentrados almidonosos (15 al 40% de la MS total consumida).

2.11. BIBLIOGRAFÍA

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Arlington, VA, USA.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1998. Official Methods of Analysis. 16th ed. Arlington, VA, USA.
- ARMSTRONG, D.G.; BLAXTER, K.L. 1961. The utilization of energy of carbohydrate by ruminants. In Proc. 2nd Symp. Energy Metab. Eur. Assoc. Anim. Prod., Wageningen, The Netherlands, pp.187–199
- BARGO, F.; MULLER, L.D.; DELAHOY, J E.; CASSIDY, T.W. 2002a. Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. *J. Dairy Sci.* 85: 1777–1792.
- BARGO, F.; MULLER, L.D.; DELAHOY, J.E.; CASSIDY, T.W. 2002b. Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 85: 2948–2963.
- BARGO, F.; MULLER, L.D.; KOLVER, E.S.; DELAHOY, J.E. 2003. Invited review: production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. *J. Dairy Sci.* 86: 1–42.
- BARGO, F.; DELAHOY, J.E.; SCHROEDER, G.F.; MULLER, L.D. 2006. Milk fatty acid composition of dairy cows grazing at two pasture allowances and supplemented with different levels and sources of concentrate. *Anim. Feed Sci. Technol.* 125: 17–31.
- BAUDRACCO, J.; LOPEZ-VILLALOBOS, N.; HOLMES, C.W.; MACDONALD, K.A. 2010. Effects of stocking rate, supplementation, genotype and their interactions on grazing dairy systems: a review. *New Zeal. J. Agr. Res.* 53: 109–133.
- BAUDRACCO, J.; LOPEZ-VILLALOBOS, N.; ROMERO, L.A.; SCANDOLO, D.; MACIEL, M.; COMERON, E.A.; HOLMES, C.W.; BARRY, T.N. 2011. Effects of stocking rate on pasture production, milk production and reproduction of supplemented crossbred Holstein–Jersey dairy cows grazing lucerne pasture. *Anim. Feed Sci. Technol.* 168: 131–143.
- BAUDRACCO, J.; COMERON, E.A.; LOPEZ-VILLALOBOS, N.; ROMERO, L.A.; SCANDOLO, D.; MACIEL, M.; BARRY, T.N.; HOLMES, C.W. 2013. Effects of Herbage Allowance on Dry Matter Intake, Efficiency of Grazing, Milk Yield and Grazing Behaviour of Crossbred Holstein–Jersey Dairy Cows Grazing Alfalfa Pastures. *Adv. Dairy Res.* 2: 109.
- BAUMAN, D.E.; CURRIE, W.B. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.* 63: 1514–1529.

- BAUMAN, D.E.; CORL, B.A.; BAUMGARD, L.H.; GRIINARI, J.M. 2001. Conjugated linoleic acid (CLA) and the dairy cow. In: Garnsworthy, P.C., Wiseman, J. (eds.), *Recent Advances in Animal Nutrition*. Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp 221-250.
- BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: Low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci.* 70: 15–29.
- BEEVER, D.E. 1993. Rumen function. In: Forbes, J.M.; France, J. (eds.) *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism*. CAB International, Wallingford, U.K. pp 187-215.
- BEEVER, D.E.; DOYLE, P.T. 2007. Feed conversion efficiency as a key determinant of dairy herd performance: a review. *Aust. J. Exp. Agr.* 47: 645–657.
- BERZAGHI, P.; HERBEIN, J.H.; POLAN, C.E. 1996. Intake, site, and extent of nutrient digestion of lactating cows grazing pasture. *J. Dairy Sci.* 79: 1581–1589.
- BINES, J.A.; HART, I.C. 1982. Metabolic limits to milk production, especially roles of growth hormone and insulin. *J. Dairy Sci.* 65: 1375-1389.
- BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M.K. 1997. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *J. Dairy Sci.* 80: 2964–2971.
- BROSTER, W.H.; BROSTER, V.J. 1984. Reviews of the progress of dairy science: Long term effects of plane of nutrition on the performance of the dairy cow. *J. Dairy Res.* 51: 149-196.
- CASTILLO, A.R.; GALLARDO, M.R.; GAGGIOTTI, M.C.; QUAINO, O.R. 1992. Suministro de heno a vacas lecheras en pastoreo. 2. Ambiente ruminal y digestión *in situ*. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 12 (4): 373-384.
- CASTILLO, A.R.; ROMERO, L.A.; QUAINO, O.R.; COMERON, E.A.; GAGGIOTTI, M.C. 2001. Supplementation of dairy cows under alfalfa grazing conditions with ground corn. In: *Proceedings of the XIX International Grassland Congress*, pp. 691-692.
- CASTILLO, A.R.; TAVERNA, M.A.; PÁEZ, R.R.; CUATRIN, A.; COLOMBATTO, D.; BARGO, F.;...; DRACKLEY, J.K. 2006. Fatty acid composition of milk from dairy cows fed fresh alfalfa based diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131: 241– 254.
- CERRATO-SÁNCHEZ, M.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A. 2007. Effects of time at suboptimal pH on rumen fermentation in a dual-flow continuous culture system. *J. Dairy Sci.* 90: 1486–1492.
- CHILIBROSTE, P.; GIBB, M.J.; SOCA, P.; MATTIAUDA, D.A. 2015. Behavioural adaptation of grazing dairy cows to changes in feeding management: do they follow a predictable pattern?. *Anim. Prod. Sci.* 55: 328–338.

- CHILLIARD, Y. 1987. Revue bibliographique: variations quantitatives et métabolisme des lipides dans les tissus adipeux et le foie au cours du cycle gestation-lactation. 2e partie: chez la brebis et la vache. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 27: 327-398.
- CHILLIARD, Y.; GAGLIOSTRO, G.A.; OLLIER, A.; BAUCHART, D. 1990. Effects of rapeseed oil duodenal infusion on dairy cow performances and blood metabolites during early lactation. *Reprod. Nutr. Dev.* 30 (suppl. 2): 229s.
- CHILLIARD, Y.; BOCQUIER, F.; DOREAU, M. 1998. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reprod. Nutr. Dev.* 38: 131-152.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A. 2004. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk acid composition and sensory properties. *Reprod. Nutr. Dev.* 44: 467-492.
- CISSÉ, M.; CHILLIARD, Y.; COXAM, V.; DAVICCO, M.J.; REMOND, B. 1991. Slow release somatotropin in dairy heifers and cows fed two levels of energy concentrate. 2. Plasma hormones and metabolites. *J. Dairy Sci.* 74: 1382-1394.
- CLARK, J.H. 1975. Lactational responses to postruminal administration of proteins and amino acids. *J. Dairy Sci.* 58: 1178-1197.
- COHICK, W.S. 1998. Role of the insulin-like growth factors and their binding proteins in lactation. *J. Dairy Sci.* 81: 1769-1777.
- COMERON, E.A.; ROMERO, L.A. 2007. Utilización de la alfalfa por vacas lecheras en pastoreo. En: Basigalup, D.H. (ed.) *El cultivo de la alfalfa en la Argentina*. Ediciones INTA, Bueno Aires, pp.305-328.
- DELABY, L.; PEYRAUD, J.L. 1997. Influence of concentrate supplementation strategy on grazing dairy cow's performance. In: Christie, B.R. (ed.), *Proceedings of the XVIII International Grassland Congress, Winnipeg, Canada. Session 29*, pp. 137-138.
- DELABY, L.; PEYRAUD, J.L. 2003. The effect of two contrasting grazing managements and level of concentrate supplementation on the performance of grazing dairy cows. *Anim. Res.* 52: 437-460.
- DELAHOY, J.E.; MULLER, L.D.; BARGO, F.; CASSIDY, T.W.; HOLDEN, L.A. 2003. Supplemental carbohydrate sources for lactating dairy cows on pasture. *J. Dairy Sci.* 86: 906-915.
- DEPETERS, E.J.; FERGUSON, J.D. 1992. Nonprotein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. *J. Dairy Sci.* 75: 3192-3209.
- DE VETH, M.J.; KOLVER, E.S. 2001. Digestion of ryegrass pasture in response to change in pH in continuous culture. *J. Dairy Sci.* 84: 1449-1457.

- DHIMAN, T.R.; ANAND, G.R.; SATTER, L.D.; PARIZA, M.W. 1999. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *J. Dairy Sci.* 82: 2146–2156.
- DHIMAN, T.R.; HELMINK, E.D. 1999. Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. *J. Dairy Sci.* 82: 412–419.
- DIJKSTRA, J.; BOER, H.; VAN BRUCHEM, J.; BRUINING, M.; TAMMINGA, S. 1993. Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH and rumen liquid volume. *Br. J. Nutr.* 69: 385-396.
- DILLON, P.; CROSSE, S.; O'BRIEN, B.; MAYES, R.W. 2002. The effect of forage type and level of concentrate supplementation on the performance of spring-calving dairy cows in early lactation. *Grass Forage Sci.* 57: 212–223.
- DILLON, P. 2006. Achieving high dry-matter intake from pasture with grazing dairy cows. In: Elgersma A., Dijkstra J., Tamminga S. (eds.). *Fresh herbage for dairy cattle, the key to a sustainable food chain*, Wageningen UR Frontis Series Volume 18, Springer, Dordrecht, the Netherlands, pp. 1-26.
- DILLON, P.; HENNESSY, T.; SHALLOO, L.; THORNE, F.; HORAN, B. 2008. Future outlook for the Irish dairy industry: A study of international competitiveness, influence of international trade reform and requirement for change: Review. *Int. J. Dairy Technol.* 61:16-29.
- DIXON, R.M; STOCKDALE, C.R. 1999. Associative effects between forages and grains: consequences for feed utilization. *Aust. J. Agric. Res.* 50: 757-773.
- DOS SANTOS, V.L.F.; DE ANDRADE FERREIRA, M.; DOS SANTOS, G.T.; DAMASCENO, J.C.; DE OLIVEIRA, K.; AGOSTINO, B.C.;...; DE LIMA SILVA, J. 2015. Cassava peel as a replacement for corn in the diet of lactating cows. *Trop Anim Health Prod* 47: 779–781.
- DOYLE, P.T.; FRANCIS, S.A.; STOCKDALE, C.R. 2005. Associative effects between feeds when concentrate supplements are fed to grazing dairy cows: a review of likely impacts on metabolisable energy supply. *Aust. J. Agric. Res.* 56: 1315–1329.
- ELGERSMA, A.; TAMMINGA, S.; ELLEN, G. 2006. Modifying milk composition through forage—A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131: 207–225.
- ELGERSMA, A. 2015. Grazing increases the unsaturated fatty acid concentration of milk from grass-fed cows: A review of the contributing factors, challenges and future perspectives. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 117: 1345-1369.
- FERNÁNDEZ, H.H. 2004. Un procedimiento simple para estimar parámetros de funciones útiles en producción animal usando solver de Excel. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 24 (1-2): 75-85.

- FRIGGENS, N.C.; OLDHAM, J.D.; DEWHURST, R.J.; HORGAN, G. 1998. Proportions of Volatile Fatty Acids in Relation to the Chemical Composition of Feeds Based on Grass Silage. *J. Dairy Sci.* 81: 1331–1344.
- GAGGIOTTI, M.G.; SALADO, E.E; GALLARDO, M.R.; ARAKAKI, L.C.; VALTORTA, S.E.; CASTRO, H.C. 2007. Degradabilidad *in situ* de las harinas de colza y de soja y los efectos de su suplementación sobre el ambiente ruminal de vacas lecheras con acceso a pastoreo de alfalfa. *Arch. Latinoam. Prod. An.* 15(supl 1):373-374
- GAGGIOTTI, M. 2008. Tabla de Composición Química de Alimentos para Rumiantes. Ediciones INTA. 67p.
- GAGLIOSTRO, G.A. 1986. Revisión bibliográfica. Utilización de metabolitos plasmáticos en la apreciación del estado nutricional en rumiantes. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 6 (3-4): 139-150.
- GAGLIOSTRO, G.A.; COCIMANO, M.R. 1987. Efecto del nivel nutricional, día y hora de muestreo sobre las concentraciones plasmáticas de ácidos grasos libres en vaquillonas. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 7 (2): 119-126.
- GAGLIOSTRO, G.A.; CHILLIARD, Y. 1991. Duodenal rapeseed oil infusion in early and mid lactation cows. 4. In vivo and in vitro adipose tissue lipolytic responses. *J. Dairy Sci.* 74: 1830-1843.
- GAGLIOSTRO, G.A.; CHILLIARD, Y.; DAVICCO, M.J. 1991. Duodenal rapeseed oil infusion in early and mid lactation cows. 3. Plasma hormones and mammary apparent uptake of metabolites. *J. Dairy Sci.* 74: 1893-1903.
- GAGLIOSTRO, G.A.; CHILLIARD, Y. 1992. Revisión bibliográfica. Utilización de lípidos protegidos en nutrición de vacas lecheras. II. Efectos sobre la concentración plasmática de metabolitos y hormonas, movilización de lípidos corporales y actividad metabólica del tejido adiposo. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 12 (1): 17-32.
- GAGLIOSTRO, G.A. 2004. Control nutricional del contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en leche y su presencia en alimentos naturales funcionales. 1. Efectos sobre la salud humana. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 24 (3-4): 113-136.
- GAINES, W.L.; DAVIDSON, F.A. 1923. Relation between percentage of fat content and yield of milk. *Illinois Agric. Exp. Stn. Bull.* 245, pp. 275-620
- GARCÍA, S.C.; SANTINI, F.J.; ELIZALDE, J.C. 2000. Sites of digestion and bacterial protein synthesis in dairy heifers fed fresh oats with or without corn or barley grain. *J. Dairy Sci.* 83: 746–755.
- GARCIA, S.C.; FULKERSON, W.J. 2005. Opportunities for future Australian dairy systems: a review. *Aust. J. Exp. Agr.* 45: 1041-1055.

- GRANZIN, B.C. 2004. Effects of Supplement Grain Type and Level of Feeding on the Milk Production of Early-Lactation Holstein-Friesian Cows Grazing Temperate and Tropical Pastures. *Aust. J. Exp. Agr.* 44: 735-743.
- GRUMMER, R.R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. 1995. *J. Anim. Sci.* 73: 2820–2833.
- HAMILTON, B.A.; ASHES, J.R.; CARMICHAEL, A.W. 1992. Effect of formaldehyde-treated sunflower meal on the milk production of grazing dairy cows. *Aust. J. Agric. Res.* 43: 379-387.
- HART, S.P. 1987. Associative effects of sorghum silage and sorghum grain diets. *J. Anim. Sci.* 64: 1779–1789.
- HESS, T.M.; KRONFELD, D.S.; TREIBER, K.H.; BYRD, B.M.; STANIAR, W.B.; SPLAN, R.K. 2005. Laminitic metabolic profile in genetically predisposed ponies involves exaggerated compensated insulin resistance. *J. Anim. Physiol. An. N.* 89 (11-12): 431.
- HILLS, J.L.; WALES, W.J.; DUNSHEA, F.R.; GARCIA, S.C.; ROCHE, J.R. 2015. Invited review: An evaluation of the likely effects of individualized feeding of concentrate supplements to pasture-based dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98: 1363-1401.
- HOLMES, C.W. 1987. Pastures for dairy cows. In: Nicol, A.M. (ed.) *Livestock Feeding on Pasture*. New Zealand Society of Animal Production. Occasional Publication N°10, pp. 133-143
- HORAN, B.; DILLON, P.; FAVERDIN, P.; DELABY, L.; BUCKLEY, F.; RATH, M. 2005. The interaction of strain of Holstein-Friesian cows and pasture-based feed systems on milk yield, body weight, and body condition score. *J. Dairy Sci.* 88: 1231–1243.
- HU, F.B.; MANSON, J.E.; WILLETT, W.C. 2001. Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: A critical review. *J. Am. Coll. Nutr.* 20: 5–19.
- HUHTANEN, P.; BLAUWIEKEL, R.; SAASTAMOINEN, I. 1998. Effects of intraruminal infusions of propionate and butyrate with two different protein supplements on milk production and blood metabolites in dairy cows receiving grass-silage based diet. *J. Sci. Food Agric.* 77: 213- 222.
- HUNTINGTON, G.; RICHARDS, C. 2005. Metabolic Fate of Products of Starch Digestion and Absorption in Beef and Dairy Cattle. *Proc. Southwest Nut. Conf.:* 67-77.
- HURTAUD, C.; RULQUIN, H.; VERITE, R. 1998. Effects of graded duodenal glucose infusions on yield and composition of milk from dairy cows. 1. Diets based on corn silage. *J. Dairy Sci.* 81: 3239–3247.

- HURTAUD, C.; LEMOSQUET, S.; RULQUIN, H. 2000. Effect of graded duodenal infusions of glucose on yield and composition of milk from dairy cows. 2. Diets based on grass silage. *J. Dairy Sci.* 83: 2952–2962.
- HUNTINGTON, G.B. 1997. Starch utilization by ruminants: From basics to the bunk. *J. Anim. Sci.* 75: 852-867.
- ISO 9622 IDF 141. 2013. Milk and Liquid Milk Products—Guidelines for the Application of Mid-Infrared Spectrometry.
- KELLAWAY, R.; PORTA, S. 1993. Feeding concentrates supplements for dairy cows. Dairy Research and Development Corporation, Melbourne, Australia. 171 p.
- KELLAWAY, R.; HARRINGTON, T. 2004. Feeding Concentrates: Supplements for Dairy Cows. (rev. ed.), Landlinks Press, Collingwood, Victoria, Australia. 171 p.
- KENNEDY, E.; O'DONOVAN, M.; DELABY, L.; O'MARA, F.P. 2008. Effect of herbage allowance and concentrate supplementation on dry matter intake, milk production and energy balance of early lactating dairy cows. *Livest. Sci.* 117: 275–286.
- KNOWLTON, K.F.; DAWSON, T.E.; GLENN, B.P.; HUNTINGTON, G.B.; ERDMAN, R.A. 1998. Glucose metabolism and milk yield of cows infused abomasally or ruminally with starch. *J. Dairy Sci.* 81: 3248-3258.
- KOLVER, E.S.; MULLER, L.D. 1998. Performance and nutrient intake of high producing Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 81: 1403–1411.
- KOLVER, E.S.; DE VETH, M.J. 2002. Prediction de ruminal pH from pasture-based diets. *J. Dairy Sci.* 85: 1255-1266.
- KOLVER, E.S. 2003. Nutritional limitations to increased production on pasture-based systems. *Proc. Nutr. Soc.* 62: 291-300.
- KOMAREK, A.R. 1993. An improved filtering technique for the analysis of neutral detergent fiber and acid detergent fiber utilizing the filter bag technique. Ankom Tech. Corp., Fairport, NY. USA. Publication N° 101, pp. 1-10.
- KRONFELD, D.S. 1976. The potential importance of the proportions of glycogenic, lipogenic and aminogenic nutrients in regard to the health and productivity of dairy cows. *Adv. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 7: 5-26.
- KUELH, R.O. 2001. Diseño de experimentos. Thomson: Australia. 666p.
- LEAVER, J.D. 1985. Milk production from grazed temperate grassland. A review. *J. Dairy Res.* 52: 313-344.
- LEAVER, J.D. 1986. Effects of supplements on herbage intake and performance. In: Frame, J. (eds.) 'Grazing'. British Grassland Society, Occasional Symposium No. 19: 79–88.

- LEDDIN, C.M.; STOCKDALE, C.R.; HILL, J.; HEARD, J.W.; DOYLE, P.T. 2010. Increasing amounts of crushed wheat fed with Persian clover herbage reduced ruminal pH and dietary fiber digestibility in lactating dairy cows. *Anim. Prod. Sci.* 50: 837-846.
- LEMOSQUET, S.; RIGOUT, S.; BACH, A.; RULQUIN, H.; BLUM, W. 2004. Glucose metabolism in lactating cows in response to isoenergetic infusions of propionic acid or duodenal glucose. *J. Dairy Sci.* 87: 1767-1777.
- LERCH, S.; FERLAY, A.; GRAULET, B.; CIRIÉ, C.; VERDIER-METZ, I.; MONTEL, M.C.; CHILLIARD, Y.; MARTIN, B. 2015. Extruded linseeds, vitamin E and plant extracts in corn silage-based diets of dairy cows: Effects on sensory properties of raw milk and uncooked pressed cheese. *Int. Dairy J.* 51: 65-74.
- LUNA, P.; JUAREZ, M.; DE LA FUENTE, M.A. 2005. Validation of a rapid milk fat separation method to determine the fatty acid profile by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 88: 377– 381.
- MACRAE, J.E.; ARMSTRONG, D.G. 1968. Enzyme method for determination of alpha-linked glucose polymers in biological materials. *J. Sci. Food Agric.* 19: 578-581.
- MCEVOY, M.; KENNEDY, E.; MURPHY, J.P.; BOLAND, T.M.; DELABY, L.; O'DONOVAN, M. 2008. The effect of herbage allowance and concentrate supplementation on milk production performance and dry matter intake of spring-calving dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 91: 1258–1269.
- MCEVOY, M.; DELABY, L.; KENNEDY, E.; BOLAND, T.M.; O'DONOVAN, M. 2009. Early lactation dairy cows: Development of equations to predict intake and milk performance at grazing. *Livest. Sci.* 122: 214–221.
- MCGILLOWAY, D.A.; MAYNE, C.S. 1996. The importance of grass availability for the high genetic merit dairy cow. In: Garnsworthy, P.C.; Wiseman, J.; Haresign, W. (eds.) *Recent Advances in Animal Nutrition*. Nottingham University Press. UK. pp.135-169.
- MCGUIRE, M.A.; DWYER, D.A.; BAUMAN, D.E.; SMITH, D.F. 1998. Insulin-like growth factors in plasma and afferent mammary lymph of lactating cows deprived of feed or treated with bovine somatotropin. *J. Dairy Sci.* 81: 950-957.
- MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R. 1977. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *J. Agric. Sci., Camb.* 88: 645-650.
- MEIJS, J.A.C.; WALTERS, R.J.K.; KEEN, A. 1982. Sward methods. In: Leaver J.D. (ed). *Herbage intake handbook*. The British Grassland Society, Grassland Research Institute, Hurley, U.K. pp. 11-37.
- MEIJS, J.A.C.; HOEKSTRA, J.A. 1984. Concentrate supplementation of grazing dairy cows. 1. Effect of concentrate intake and herbage allowance on herbage intake. *Grass Forage Sci.* 39: 59-66.

- MERTENS, D.R.; LOFTEN, J.R. 1980. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics in vitro. *J. Dairy Sci.* 63: 1437-1446.
- MERTENS, D.R. 1994. Regulation of forage intake. In: Fahey (Jr), G.C..et al. (eds.) *Forage Quality, Evaluation and Utilization*. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, pp. 450–493
- MINSON, D.J. 1990. *Forage in ruminant nutrition*. Academic Press Inc., San Diego, California. 482 p.
- MOE, P.W.; FLATT, W.P.; TYRREL, H.F. 1972. Net energy value of feeds for lactation. *J. Dairy Sci.* 55: 945–958.
- MULLER, L.D.; FALES, S.L. 1998. Supplementation of cool-season grass pastures for dairy cattle. In: Cherney, H.J.;Cherney,D.J.R. (eds.). *Grass for dairy cattle..* CAB International, pp. 335-350
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC, USA.
- NORO, M.; VARGAS, V.; PULIDO, R.G.; WITTWER, F. 2006. Efecto del tipo de concentrado sobre indicadores sanguíneos del metabolismo de energía y de proteínas en vacas lecheras en pastoreo primaveral. *Arch. Med. Vet.* 38: 227-232.
- ØRSKOV, E.R.; MCDONALD, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci., Camb.* 92: 499-503..
- OWENS, F.N.; ZINN, R.A.; KIM, Y.K. 1986. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *J. Anim. Sci.* 63: 1634-1648.
- PALMQUIST, D.L.; BEAULIEU, A.D.; BARBANO, D.M. 1993. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J. Dairy Sci.* 76: 1753–1771.
- PARODI, P.W. 1999. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J. Dairy Sci.* 82: 1339-1349.
- PATERSON, J.A.; BELYEA, R.L.; BOWMAN, J.P.; KERLEY, M.S.; WILLIAMS, J.E. 1994. The impact of forage quality and supplementation regimen on ruminant animal intake and performance. In: Fahey (Jr.), G.C. (ed.). *Forage Quality, Evaluation and Utilization*. ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wi, pp. 59-114.
- PEYRAUD, J.L.; COMERON, E.A.; WADE, M.H.; LEMAIRE, G. 1996. The effect of daily herbage allowance, herbage mass and animal factors upon herbage intake by grazing dairy cows. *Ann. Zootech.* 45 (3): 201-217.

- PEYRAUD, J.L.; DELABY, L. 2001. Ideal concentrate feeds for grazing dairy cows responses to supplementation in interaction with grazing management and grass quality. In: Garnsworthy, P. C.; Wiseman, J. (eds.). *Recent Advances in Animal Nutrition*. Nottingham University Press, UK. pp.203-220
- PEYRAUD, J.L.; DELABY, L. 2005. Combiner la gestion optimale du pâturage et les performances des vaches laitières: enjeux et utiles. *INRA Prod. Anim.* 18 (4): 231-240.
- POPPI, D.P.; HUGHES, T.P.; L'HUILLIER, P.J. 1987. Intake of pasture by grazing ruminants. In: *Livestock Feeding on Pasture*. NZ Soc. Anim. Prod. Occ. Pub. 10: 55-63.
- RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. 2006. *Veterinary medicine*, 10th ed. Saunders Elsevier, Edinburgh, pp. 2162-2165.
- REIS, R.B.; COMBS, D.K. 2000. Effects of increasing levels of grain supplementation on rumen environment and lactation performance of dairy cows grazing grass-legume pasture. *J. Dairy Sci.* 83: 2888–2898.
- REMOND, D.; CABRERA-ESTRADA, J.I.; CHAMPION, M.; CHAUVEAU, B.; COUDURE, R.; PONCET, C. 2004. Effects of corn particle size on site and extent of starch digestion in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 1389-1399.
- RIGOUT, S.; LEMOSQUET, S.; VAN EYS, J.E. 2002. Duodenal glucose increases glucose fluxes and lactose synthesis in grass-silage fed dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 595-606.
- RIGOUT, S.; LEMOSQUET, S.; BACH, A. 2002. Duodenal infusion of glucose decreases milk fat production in grass silage-fed dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 2541-2550.
- RIGOUT, S.; HURTAUD, C.; LEMOSQUET, S.; BACH, A.; RULQUIN, H. 2003. Lactational effect of propionic acid and duodenal glucose in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 243-253.
- RODRIGUEZ, N.M.; SALIBA, E.O.; GUIMARAES-JUNIOR, R. 2007. Use of parameters for estimation of forage consumption and digestibility. Purified enriched lignin, LIPE. *Rev Col de Cie Pec* 20: 518-525.
- ROMERO, L.A.; COMERON, E.A.; BRUNO, O.A.; DÍAZ, M.C. 1995. Efecto del nivel de asignación de pasturas de alfalfa sobre la respuesta de vacas lecheras. 1. Consumo y comportamiento ingestivo. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 15 (2): 623-626.
- ROSSETTI, L.; LANGMAN, L.; GRIGIONI, G.M.; BIOLATTO, A.; SANCHO, A.M.; COMERÓN, E.; DESCALZO, A.M. 2010. Antioxidant status and odor profile in milk from silage or alfalfa-fed cows. *Australian J. Dairy Tech.* 65 (1): 3-9.
- RUSSELL, J.B.; WILSON, D.B. 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH?. *J. Dairy Sci.* 79: 1503–1509.

- SAIRANEN, A.; KHALILI, H.; NOUSIAINEN, J.I.; AHVENJÄRVI, S.; HUHTANEN, P. 2005. The effect of concentrate supplementation on nutrient flow to the omasum in dairy cows receiving freshly cut grass. *J. Dairy Sci.* 88: 1443–1453.
- SAIRANEN, A.; KHALILI, H.; VIRKAJARVI, P. 2006. Concentrate supplementation responses of the pasture-fed dairy cow. *Livest. Sci.* 104: 292-302.
- SALADO, E.E.; GAGLIOSTRO, G.A.; BECU-VILLALOBOS, D.; LACAU-MENGIDO, I. 2004. Partial replacement of corn grain by hydrogenated oil in grazing dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 87: 1265-1278.
- SALIBA, E.O.S.; FARIA, E.P.; RODRIGUEZ, N.M.; MOREIRA, G.R.; SAMPAIO, I.B.M.; SALIBA, J.S.; GONÇALVES, L.C.; BORGES, I.; BORGES, A.L.C.C. 2015. Use of Infrared Spectroscopy to Estimate Fecal Output with Marker Lipe®. *Int J Food Sci Nutr Diet.* S4:001: 1-10.
- SALMINEN, I.; MUTANEN, M.; JAUHAINEN, M.; ARO, A. 1998. Dietary trans fatty acids increase conjugated linoleic acid levels in human serum. *J. Nutr. Biochem.* 9: 93-98.
- SANTANA, M.C.A.; VIEIRA, B.R.; COSTA, D.F.; DIAN, P.H.M.; FIORENTINI, G.; CANESIN, R.C.; ...; BERCHIELLI, T.T. 2015. Source and frequency of dry season lipid supplementation of grazing finishing cattle. *Anim. Prod. Sci.* 55: 745–751.
- SANTOS, S.A.; FILHO, S.C.V.; DETMANN, E.; VALADARES, R.F.D.; RUAS, J.R.M.; AMARAL, P.M. 2011. Different forage sources for F1 Holstein×Gir dairy cows. *Livest. Sci.* 142: 48–58.
- SANTOS, S.A.; FILHO, S.C.V.; DETMANN, E.; VALADARES, R.F.D.; RUAS, J.R.M.; PRADOS, L.F.; VEGA, D.S.M. 2012. Voluntary intake and milk production in F1 Holstein×zebu cows in confinement. *Trop Anim Health Prod* 44: 1303–1310.
- SAS Institute Inc. 2010. SAS/STAT® User's Guide (2002-2010). SAS Institute, Cary, NC, USA.
- SAYERS, H.J.; MAYNE, C.S.; BARTRAM, C.G. 2003. The effect of level and type of supplement offered to grazing dairy cows on herbage intake, animal performance and rumen fermentation characteristics. *Anim. Sci.* 76: 439-454.
- SHEAHAN, A.J.; KOLVER, E.S.; ROCHE, J.R. 2011. Genetic strain and diet effects on grazing behavior, pasture intake, and milk production. *J. Dairy Sci.* 94: 3583–3591.
- SIMOPOULOS, A.P. 2004. Omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food Rev. Int.* 20: 77–90.
- STANTON, C.; MURPHY, J.; MCGRATH, E.; DEVERY, R. 2003. Animal feeding strategies for conjugates linoleic acid enrichment of milk. In: Sébédio, J.L.; Christie, W.W.; Adloff, R. (eds.). *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food*. Vol 2. AOCS Press: Illinois, pp.123-145.

- STOCKDALE, C.R.; CALLAGHAN, A.; TRIGG, T.E. 1987. Feeding high energy supplements to pasture fed dairy cows. Effects of stage of lactation and level of supplement. *Aust. J. Agric. Res.* 38: 927–940.
- STOCKDALE, C.R. 1999. The nutritive characteristics of herbage consumed by grazing dairy cows affect milk yield responses obtained from concentrate supplementation. *Aust. J. Exp. Agr.* 39: 379–387.
- STOCKDALE, C.R. 2000. Levels of pasture substitution when concentrates are fed to grazing dairy cows in northern Victoria. *Aust. J. Exp. Agr.* 40: 913–921.
- STOCKDALE, C.R.; WALKER, G.P.; WALES, W.J.; DALLEY, D.E.; BIRKETT, A.; SHEN, Z.; DOYLE, P.T. 2003. Influence of pasture and concentrates in the diet of grazing dairy cows on the fatty acid composition of milk. *J. Dairy Res.* 70: 267–276.
- STOCKDALE, C.R. 2004. Effects of level of feeding of concentrates during early lactation on the yield and composition of milk from grazing dairy cows with varying body score condition at calving. *Aust. J. Exp. Agr.* 44: 1-9.
- SUTTON, J.D. 1985. Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. *J. Dairy Sci.* 68: 3376-3393.
- SUTTON, J.D. 1989. Altering Milk Composition by Feeding. *J. Dairy Sci.* 72: 2801-2814.
- SYMONDS, H.W.; MATHER, D.L.; COLLIS, K.A. 1981. The maximum capacity of the liver of the adult dairy cow to metabolize ammonia. *Br. J. Nutr.* 46: 481-486.
- TAMMINGA, S. 1993. Influence of feeding management on ruminant fiber digestibility. In: Buxton, D.R. et al. (eds.). *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, pp. 571–602.
- TAVERNA, M. 2005. La calidad como factor de competitividad de la cadena láctea. En: *Manual de referencias técnicas para el logro de leche de calidad*, 2da ed. INTA. EEA Rafaela, pp. 7-16.
- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. 1963. A two-stage technique for in vitro digestion of forage crops. *J. Br. Grassland. Soc.* 18: 104-111.
- TYRRELL, H.F.; REID, J.T. 1965. Prediction of the energy value of cow's milk. *J. Dairy Sci.* 48: 1215–1223.
- VAN KNEGSEL, A.T.M.; VAN DEN BRAND, H.; DIJKSTRA, J.; TAMMINGA, S.; KEMP, B. 2005. Effect of dietary energy source on energy balance, production, metabolic disorders and reproduction in lactating dairy cattle. A review. *Reprod. Nutr. Dev.* 45: 665–688.

- VAN KNEGSEL, A.T.M. 2007. Energy partitioning in dairy cows – Effects of lipogenic and glycogenic diets on energy balance, metabolites and reproduction variables in early lactation. PhD thesis Wageningen University, The Netherlands. 168 p.
- VAN KNEGSEL, A.T.M.; VAN DEN BRAND, H.; GRAAT, E.A.M.; DIJKSTRA, J.; JORRITSMA, R.; DECUYPERE, E.; TAMMINGA, S.; KEMP, B. 2007. Dietary energy source in dairy cows in early lactation: metabolites and metabolic hormones. *J. Dairy Sci.* 90: 1477–1485.
- VAN VUUREN, A.M.; VAN DER KOELEN, J.; VROONS-DE BRUIN, J. 1986. Influence of the level and composition of concentrate supplements on rumen fermentation patterns of grazing dairy cows. *Neth. J. Agric. Sci.* 34: 457–467.
- VAN VUUREN, A.M.; TAMMINGA, S.; KETELAAR, R.S. 1990. Ruminant availability of nitrogen and carbohydrates from fresh and preserved herbage in dairy cows. *Neth. J. Agric. Sci.* 38: 499–512.
- VAN VUUREN, A.M.; KROL-KRAMER, F.; VAN DER LEE, R.A.; CORBIJN, H. 1992. Protein digestion and amino acids in dairy cows fed fresh *Lolium perenne* with different nitrogen contents. *J. Dairy Sci.* 75: 2215–2225.
- VERITÉ, R.; JOURNET, M. 1970. Influence de la teneur en eau et de la deshydratation de l'herbe sur sa valeur alimentaire pour les vaches laitières. *Ann. Zootech.* 19: 255–268.
- VISEK, W.J. 1984. Ammonia: its effects on biological systems, metabolic hormones, and reproduction. *J. Dairy Sci.* 67: 481–498.
- WALES, W.J.; DOYLE, P.T. 2003. Effect of grain and straw supplementation on marginal milk production responses and rumen function of cows grazing highly digestible subterranean clover pasture. *Aust. J. Exp. Agr.* 43: 467–474.
- WALES, W.J.; KOLVER, E.S.; THORNE, P.L.; EGAN, A.R. 2004. Diurnal variation in ruminal pH on the digestibility of highly digestible perennial ryegrass during continuous culture fermentation. *J. Dairy Sci.* 87: 1864–1871.
- WALES, W.J.; HEARD, J.W.; HO, C.K.M.; LEDDIN, C.M.; STOCKDALE, C.R.; WALKER, G.P.; DOYLE, P.T. 2006. Profitable feeding of dairy cows on irrigated dairy farms in northern Victoria. *Aust. J. Exp. Agr.* 46: 743–752.
- WALKER, G.P.; STOCKDALE, C.R.; WALES, W.J.; DOYLE, P.T.; DELLOW, D.W. 2001. Effect of level of grain supplementation on milk production responses of dairy cows in mid-late lactation when grazing irrigated pastures high in paspalum (*Paspalum dilatatum* Poir.). *Aust. J. Exp. Agr.* 41: 1–11.
- WALKER, G.P.; DUNSHEA, F.R.; DOYLE, P.T. 2004. Effect of nutrition and management on the production and composition of milk fat and protein: a review. *Aust. J. Agric. Res.* 55: 1009–1028.

- WIJESUNDERA, C.; SHEN, Z.; WALES, W.J.; DALLEY, D.E. 2003. Effect of cereal grain and fibre supplements on the fatty acid composition of milk fat of grazing dairy cows in early lactation. *J. Dairy Res.* 70: 257–265.
- WILDMAN, E.E.; JONES, G.M.; WAGNER, P.E.; BOMAN, R.L.; TROUTT, H.F.; LESCH, T.N. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J. Dairy Sci.* 65: 495-501.

3. ENSAYO 3

RESPUESTA PRODUCTIVA DE VACAS LECHERAS ALIMENTADAS CON DIFERENTES NIVELES DE RACIÓN TOTALMENTE MEZCLADA Y PASTURA

RESUMEN

Cuarenta vacas multíparas de raza Holando Argentino en lactancia temprana (66 ± 19 días posparto) produciendo $32,5 (\pm 4,0)$ kg leche fueron asignadas durante 9 semanas en otoño-invierno a uno de cuatro tratamientos que consistieron en diferentes proporciones de ración totalmente (TMR) y pastura (*Avena sativa* L.): 100% TMR (T0), 75% TMR:25% pastura (T1), 50% TMR:50% pastura (T2) y 25% TMR:75% pastura (T3). Mediciones de ambiente y cinética de digestión ruminal se realizaron sobre 4 vacas adicionales de la misma raza en lactancia tardía (287 ± 13 días posparto) provistas de fístula ruminal permanente y produciendo $22,6 (\pm 5,4)$ kg leche en un diseño en cuadrado latino 4×4 . Las vacas de los grupos T1 a T3 fueron conducidas a la parcela de pastoreo una vez finalizado el consumo de TMR prefijado y se fijó una asignación de pastura de 2 veces el consumo de MS de pastura esperado. Semanalmente se tomaron muestras individuales de leche para las determinaciones de composición química, perfil de ácidos grasos (AG) y compuestos antioxidantes. Las vacas fueron pesadas individualmente cada 2 semanas y se determinó la nota de condición corporal (CC). Cada 2 semanas, luego del ordeño de la mañana, se tomaron muestras de sangre para las determinaciones de glucosa, urea, ácidos grasos no esterificados (AGNE), insulina, somatotropina (GH) y somatomedina C (IGF-I) plasmáticas. La biomasa aérea promedio de la pastura fue 2540 ± 343 kg MS ha⁻¹. Las variables de producción y composición de leche analizadas incrementaron linealmente con el consumo de TMR, excepto los contenidos de grasa ($3,88$ g 100 g⁻¹) y proteína ($3,43$ g 100 g⁻¹) que no fueron afectados. La producción de leche (kg vaca⁻¹ día⁻¹) resultó máxima en T0 ($34,2$) y disminuyó linealmente ($P < 0,01$) con el consumo de pastura promediando $32,1$ (T1), $28,4$ (T2) y $26,8$ (T3), resultado que estaría explicado por un menor consumo de energía de las vacas en pastoreo y un mayor costo energético asociado con la actividad de pastoreo. La producción de grasa (kg vaca⁻¹ día⁻¹) resultó mayor en T0 ($1,35$) y T1 ($1,25$) con respecto a T2 ($1,10$) y T3 ($1,04$). Similarmente, la producción de proteína (kg vaca⁻¹ día⁻¹) resultó mayor en T0 ($1,18$) y T1 ($1,11$) con respecto a T2 ($0,96$) y T3 ($0,92$). Los consumos de MS total

(24,09 kg vaca⁻¹ día⁻¹) y energía (41,95 Mcal ENL vaca⁻¹ día⁻¹) resultaron máximos en T0 disminuyendo con el incremento de la relación pastura:TMR, sin efectos sobre la eficiencia de conversión (1,48 kg leche kg MS⁻¹). Las concentraciones plasmáticas de glucosa, insulina e IGF-I no fueron afectadas, pero los niveles circulantes de GH y AGNE aumentaron ante el reemplazo de TMR por pastura en T3. El pH ruminal (5,91) y las concentraciones de AGV totales e individuales no difirieron, pero la concentración de N-NH₃ resultó mayor en los tratamientos con mayor proporción de pastura. Los parámetros asociados a la cinética de digestión ruminal de la MS y de la FDN de la pastura y del ensilaje de maíz no fueron afectados. El perfil de AG y la calidad antioxidante de la leche mostraron cambios desfavorables a medida que el consumo de TMR incrementó por una reducción en el contenido de AG saludables (ruménico y linolénico) y de vitaminas antioxidantes, sin efectos sobre el índice de aterogenicidad. Los resultados obtenidos sugieren un efecto depresor de la pastura sobre el consumo total de MS y energía que estaría explicado por deficiencias cualitativas en la composición química del forraje y/o factores que afectan el comportamiento animal y que puede inducir pérdidas en la condición corporal de vacas de alta producción.

Palabras clave: vaca lechera, raciones parcialmente mezcladas, producción y composición de leche, digestión ruminal y valor saludable de la leche.

ABSTRACT

Forty multiparous Holstein cows in early lactation (66 ± 19 days postpartum) producing $32.5 (\pm 4.0)$ kg milk were assigned to one of four treatments that consisted in different ratios of total mixed rations (TMR) and pasture at 100% TMR (T0), 75:25 (T1), 50:50 (T2) and 25:75 (T3) over 9 weeks in autumn-winter. Measures of rumen parameters and digestion were performed on 4 additional Holstein cows in late lactation (287 ± 13 days postpartum) fitted with permanent ruminal fistulae and producing $22.6 (\pm 5.4)$ kg milk in a 4×4 latin square design. In T1 to T3 cows were taken to the grazing plot once they finished the pre-planned TMR intake and pasture was offered at 2 times the expected forage DM intake. Weekly individual samples of milk were taken for the determinations of chemical composition, fatty acid (FA) profile and antioxidant compounds. The cows were individually weighed every 2 weeks and body condition score (BCS) was determined. After the morning milking, blood samples were taken every 2 weeks and plasma was analyzed for glucose, urea, non-esterified fatty acids (NEFA), insulin, growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF-I). Herbage mass in pre grazing strips of pasture averaged 2540 ± 343 kg DM/ha. As TMR intake increased, production variables increased linearly excepting milk fat (3.88 g 100 g⁻¹) and milk protein (3.43 g 100 g⁻¹) contents that were not affected. Milk yield (kg cow⁻¹ day⁻¹) resulted maximal in T0 (34.2) and linearly decreased ($P < 0.01$) with pasture intake averaging 32.1 (T1), 28.4 (T2) and 26.8 (T3) result that would be explained by a lower energy intake of grazing cows and a higher energy cost associated with grazing activity. Milk fat output (kg cow⁻¹ day⁻¹) resulted higher in T0 (1.35) and T1 (1.25) compared to T2 (1.10) and T3 (1.04). Similarly, milk protein yield (kg cow⁻¹ day⁻¹) was higher in T0 (1.18) and T1 (1.11) compared to T2 (0.96) and T3 (0.92). Total DM (24.09 kg cow⁻¹ day⁻¹) and energy (41.95 Mcal NEL cow⁻¹ day⁻¹) intakes resulted maximal in T0 decreasing as pasture replaced TMR without effects on conversion efficiency (1.48 kg milk kg DM⁻¹). Plasma concentration of glucose, insulin and IGF-I were not affected but GH and NEFA increased as pasture replaced TMR in T3. Ruminal pH (5.91) and total or VFA proportions did not differ but NH₃-N concentration resulted higher in treatments with higher proportion of pasture. Kinetic parameters of DM and NDF digestion from pasture or corn silage were not affected. Milk FA profile and milk antioxidant quality showed unfavorably changes as TMR increased by a decrease in rumenic and linolenic acids and content of antioxidant vitamins, without effect on the atherogenicity index. Results suggested a depressing effect of the pasture on total

DM and energy intake probably explained by qualitative deficiencies chemical composition of the forage and/or factors that affect animal behavior that may induce losses in body condition of high yielding dairy cows.

Keywords: dairy cow, partial mixed rations, milk yield and composition, ruminal digestion, nutritional healthy value of milk.

3.1. INTRODUCCIÓN

Al igual que en otros países, Argentina está avanzando hacia sistemas de producción de leche más intensificados con diversas variantes. Este fenómeno podría explicarse por el hecho de que los productores de leche argentinos están buscando maneras de liberar tierras para la agricultura, principalmente para el cultivo de la soja (*Glycine max*) que se considera una actividad más rentable y más simple que la producción de leche (Descalzo *et al.*, 2012). En tal sentido, los sistemas de alimentación basados en el uso de pasturas están siendo gradualmente reemplazados por sistemas confinados, en los cuales se les suministran a las vacas lecheras forrajes conservados (ensilaje y heno) y concentrados a base de granos de cereales y subproductos de la agroindustria bajo la forma de una ración total mezclada (TMR, por sus siglas en inglés). En este contexto, el confinamiento de las vacas lecheras en nuestro país está recibiendo actualmente particular atención.

Los sistemas estabulados basados en TMR permitirían la expresión del potencial de producción en vacas de alto mérito genético y mejorarían la eficiencia de conversión en rodeos lecheros (Vibart, 2006) aunque con costos de alimentación superiores representando más del 50% de los costos totales de producción (Moore, 1998; Short, 2004). Además de los menores costos de producción (Dillon *et al.*, 2008), los sistemas pastoriles se caracterizan por un bajo impacto ambiental (White *et al.*, 2001a) comparados con los sistemas confinados, pero presentan limitaciones nutricionales que impiden la expresión del potencial de producción a vacas de alto mérito genético (Kolver y Muller, 1998).

Una alternativa de intensificación es la combinación de TMR y pastoreo, lo cual se conoce como ración parcialmente mezclada (PMR, por sus siglas en inglés) debido a que la pastura es cosechada en forma directa por las vacas y no forma físicamente parte de la TMR. Este sistema de alimentación semi-confinado podría ser una alternativa útil para los productores lecheros que evalúan la transición hacia la adopción de sistemas confinados y su implementación permitiría obtener ventajas parciales de ambos sistemas (pastoril y confinado). El uso de la pastura reduciría la cantidad de TMR en la ración total y en consecuencia el costo de alimentación pudiendo mejorar la salud del rodeo (Soriano, Polan y Miller, 2001; Washburn *et al.*, 2002).

La mayoría de los estudios publicados evaluaron sistemas que consistían en TMR vs. alguna combinación de pastura más concentrado o pastura más TMR. Tales comparaciones incluyeron TMR vs. una dieta puramente pastoril (Kolver y Muller, 1998;

Kolver *et al.*, 2002), TMR vs. pastura más concentrado (White *et al.*, 2002; Fontaneli *et al.*, 2005), TMR vs. pastura durante la mañana o la tarde más TMR (Soriano *et al.*, 2001) y TMR vs. pastura más concentrado vs. una combinación de pastura con TMR (Bargo *et al.*, 2002a). Dichos estudios demostraron que las vacas confinadas y alimentadas con TMR incrementaron el consumo de materia seca (MS) total (Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; White *et al.*, 2002), la producción de leche (Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; White *et al.*, 2002; Fontaneli *et al.*, 2005), el peso vivo (Kolver y Muller, 1998; Bargo *et al.*, 2002a; Fontaneli *et al.*, 2005) y la condición corporal (Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; Washburn *et al.*, 2002).

La información sobre la respuesta zootécnica esperable en sistemas de alimentación combinando distintas proporciones de TMR y pastura es inexistente en el País y escasa en el extranjero (Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010; Fajardo *et al.*, 2015). En experimentos de 8 semanas de duración conducidos en otoño y primavera, Vibart *et al.* (2008) concluyeron que en otoño la pastura puede ser incluida hasta en un 41% del total de la PMR sin afectar la respuesta productiva en comparación con un sistema TMR. Del mismo modo, Morales-Almaráz *et al.* (2010) tampoco observaron diferencias en la producción de leche de vacas alimentadas con 100% TMR o con relaciones TMR:pastura de 79:21 ó 63:37. Según los autores, este resultado estaría explicado por un adecuado consumo de energía en todos los tratamientos en relación al nivel de producción. El nivel máximo de inclusión de pastura en la ración sin provocar pérdidas en la respuesta productiva requiere mayor investigación a fines de conocer el efecto del aumento en la cantidad de pastura en relación a la participación de TMR sobre variables productivas.

Las diferentes combinaciones de TMR y pastura pueden a su vez inducir cambios en el ambiente ruminal (pH, proporciones molares de ácidos grasos volátiles (AGV), concentración de nitrógeno amoniacal (N-NH₃)) y en la digestión de la MS y de la fibra como fue demostrado por Bargo, Muller, Varga *et al.* (2002) utilizando animales canulados y por Vibart, Burns y Fellner (2010) utilizando fermentadores de flujo continuo. Por lo tanto, los diferentes escenarios nutricionales generados *in vivo* en el ensayo de campo, fueron a su vez simulados en ensayos *in situ* con vacas canuladas de rumen.

Finalmente, la bibliografía indica que cuanto más alto sea el nivel de inclusión de TMR en la dieta en detrimento del de pastura se afecta el valor saludable de la leche como consecuencia de una disminución de moléculas bioactivas como el *trans*-11C18:1 o ácido

vaccénico (AV), el 9-*cis* 11-*trans* C18:2 o ácido ruménico (AR) y el C18:3n-3 o ácido α -linolénico (White *et al.*, 2001b; Looor *et al.*, 2003; Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010). Asimismo, se ha prestado poca atención a la transferencia de compuestos bioactivos como las vitaminas antioxidantes desde la dieta a la leche, a pesar de que los mismos mejoran la vida útil de los productos lácteos y presentan propiedades benéficas para la salud (Nozière *et al.*, 2006; Calderón *et al.*, 2007). El riesgo potencial en la pérdida de calidad nutricional o valor saludable de la leche en sistemas de alimentación con altos niveles de inclusión de TMR fue también evaluado en el presente trabajo.

3.1.1. HIPÓTESIS

1. El reemplazo de pastura de avena por TMR incrementará el consumo de materia seca total y de energía con efectos positivos sobre la producción de leche y sólidos, sin variaciones en la eficiencia de conversión (kg leche kg de MS consumida⁻¹).

2. El consumo de niveles crecientes de TMR en reemplazo de pastura modificará el ambiente ruminal en un sentido favorable a la producción de leche a través de un mejor equilibrio de nutrientes.

3. Los parámetros indicadores de lipomovilización estarán acentuados ante una mayor inclusión de pastura en la dieta.

4. La calidad nutricional saludable de la leche será negativamente afectada con la participación creciente de TMR en la dieta.

Vale aclarar que los potenciales efectos positivos de una TMR balanceada nutricionalmente sobre el ambiente ruminal incluyen un pH más alto y/o estable con menores concentraciones de N-NH₃ al incluir en la ración forrajes ricos en fibra efectiva y con menor contenido de PB con respecto a las pasturas (Bargo, Muller, Varga *et al.*, 2002).

3.1.2. OBJETIVOS

- Conocer el efecto del reemplazo creciente de pastura de avena por TMR (control positivo) sobre el consumo de MS y energía, la producción y composición química de la leche, la variación de peso vivo (PV) y condición corporal (CC) y la composición en ácidos grasos y compuestos antioxidantes de la leche en un rango acotado de participación del pasto (75 a 25% del consumo de MS total).

- Conocer el efecto de los diferentes escenarios nutricionales generados sobre el ambiente metabólico (concentración plasmática de metabolitos y hormonas), parámetros de ambiente ruminal y la digestión de la fibra en el rumen.

3.2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.2.1. Sistemas pastoriles de producción de leche.

La gran variabilidad en los precios de las materias primas y las preocupaciones sobre el bienestar animal percibidas en torno al confinamiento permanente del ganado han llevado a un renovado interés mundial en los sistemas pastoriles de producción de leche (Hills *et al.*, 2015). Las pasturas templadas, cuando son consumidas en estado vegetativo presentan una digestibilidad de la MS superior al 70%, explicada por una alta degradabilidad de la fibra y pueden promover una alta eficiencia de síntesis de proteína microbiana a nivel ruminal (Cajarville *et al.*, 2012). Además, la inclusión de pasturas frescas en la dieta de vacas lecheras tendría beneficios tanto para el productor como para el consumidor final. Entre las ventajas de los sistemas pastoriles de producción de leche, en relación con los sistemas de producción confinados, se destacan:

- Menores costos de producción. La bibliografía internacional indica que las pasturas, si se las utiliza adecuadamente, siguen siendo reconocidas como el alimento más económico para alimentar al ganado. Sobre este aspecto se mostró con un alto grado de asociación ($R^2 = 0,91$), que el costo de producir un litro de leche disminuye cuadráticamente a medida que aumenta la proporción de pastura en la dieta (Dillon *et al.*, 2008).
- Menores costos de implementación en equipos, construcciones y labores asociadas al correcto manejo de los animales (White *et al.*, 2002; Soder y Rotz, 2003).
- Una mejor salud global del rodeo, con una menor incidencia de laminitis, patologías podales, mastitis, enfermedades uterinas y menores tasas de mortalidad (Arnott, Ferris y O'Connell, 2017). Desde este punto de vista, los sistemas pastoriles promoverían un mayor bienestar de los animales (Rushen *et al.*, 2008).
- Un mayor valor saludable de la leche, ya que las vacas en pastoreo presentan una grasa láctea con un mayor contenido de moléculas benéficas como los CLA y los ácidos grasos omega 3 (Jahreis *et al.*, 1997; Kelly *et al.*, 1998; Dhiman *et al.*, 1999, Loor *et al.*, 2003; Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010), consecuencia de los altos niveles

de ácidos grasos poliinsaturados presentes en las pasturas. Los CLA, son una familia de isómeros del Ácido Linoleico Conjugado (C18:2) que presentan potenciales propiedades benéficas sobre la salud (prevención de algunos tipos de cáncer, atenuación de aterosclerosis y diabetes, efectos anti-obesidad) demostradas en experimentos sobre animales de laboratorio y en cultivos *in vitro* de células tumorales humanas (Bauman *et al.*, 2001).

Sin embargo, los sistemas de alimentación basados en pasturas tienen como limitante la dificultad de asegurar una oferta constante de alimentos en cantidad y calidad a lo largo del tiempo. Incluso cuando no hay restricciones en la cantidad y características nutritivas de la pastura disponible, el consumo de MS y por ende de energía es considerado el principal factor que limita la producción de leche, particularmente en vacas de alto mérito genético (Kolver y Muller, 1998; Reis y Combs, 2000; Bargo *et al.*, 2002a). Las vacas de mayor potencial se adaptan a la alimentación pastoril a través de un mayor consumo de forraje (180 g MS de pasto/kg de leche extra al pico de producción; Delagarde, Peyraud y Delaby, 2004), pero para maximizarlo es necesario asegurar ofertas elevadas del orden de 60 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹ (Peyraud y Delaby, 2005). No obstante, incrementar la oferta de forraje para alcanzar el potencial de consumo generaría alturas crecientes en la biomasa residual de fin de pastoreo, conduciendo a una baja eficiencia de cosecha y a un deterioro progresivo en la calidad del pasto (Peyraud y Delaby, 2005). En condiciones de pastoreo primaveral y oferta no limitante de forraje, el consumo máximo de MS en vacas de alto mérito genético parece oscilar entre 3,0 a 3,5% del PV (Peyraud *et al.*, 1996; Kolver y Muller, 1998; Bargo *et al.*, 2002b). La limitación a un mayor consumo de pastura por las vacas lecheras se debe a restricciones de tipo físicas (digestión y pasaje de material por el tracto digestivo), por limitación de tiempo para actividades de cosecha y rumia del forraje ingerido, o por la alta cantidad de agua ingerida con la pastura (Chilibroste, Gibb y Tamminga, 2005). Así, la producción máxima obtenible sobre pasturas de alta calidad parecería situarse en alrededor de 22-25 kg leche vaca⁻¹ día⁻¹ (Delaby y Peyraud, 1997). Producciones mayores serían obtenibles si la condición corporal de los animales permite la movilización de energía endógena. Kolver y Muller (1998) reportaron que la menor producción de leche (29,6 vs. 44,1 kg día⁻¹) de vacas lecheras de alta producción consumiendo solo pasturas de alta calidad con respecto a vacas consumiendo una TMR balanceada nutricionalmente fue explicada por un menor consumo de MS (19,0 vs. 23,4 kg día⁻¹) y energía, a pesar de la

elevada disponibilidad y digestibilidad del forraje. Las principales diferencias entre dietas estuvieron dadas por el % MS y por el tenor de FDN, parámetros de calidad que afectan el consumo. Además, el incremento en las concentraciones plasmáticas de beta-hidroxi-butorato y AGNE y la disminución de PV y CC registrados en las vacas con alimentación pastoril son indicadores inequívocos de subnutrición. Parte de la producción obtenida no sería atribuible al potencial pastura ya que la misma fue lograda a través de movilización de reservas corporales (energía endógena). Este estudio indicó que las vacas lecheras de alto mérito genético en pastoreo necesitan energía suplementaria para alcanzar su máximo potencial de producción.

3.2.2. Alternativas para superar las limitantes de los sistemas pastoriles.

La suplementación con concentrados energéticos (como los granos de cereales) es una práctica que en general permite aumentar el consumo de MS y energía y puede mejorar el balance de nutrientes cuando la calidad del forraje no es óptima (Bargo et al., 2003). Estudios realizados con vacas lecheras de alta producción en pastoreo (Reis y Combs, 2000; Soriano, Polan y Miller, 2000; Bargo *et al.*, 2002b) informaron que la suplementación con 8 a 9 kg día⁻¹ de concentrados a base de maíz incrementó el consumo de MS total hasta aproximadamente 21 kg día⁻¹ y permitió sostener producciones de alrededor de 30 kg día⁻¹.

Sin embargo, la respuesta marginal a niveles crecientes de suplementación con concentrados energéticos es curvilínea (Walker *et al.*, 2001; Kellaway y Harrington, 2004). Walker *et al.* (2001) reportaron que la producción de LGC4% incrementó significativamente con el consumo de concentrado (desde 0 hasta 10,4 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹), pero tendió a un *plateau* antes de alcanzar los mayores niveles de consumo. Esta respuesta estaría explicada por dos mecanismos: un aumento del nivel de sustitución de pastura por concentrado y una disminución del pH ruminal llevando a una reducción en la digestión de la fibra a medida que aumenta el nivel de suplementación con concentrado (García y Fulkerson, 2005).

Si bien la suplementación con concentrados permite incrementar el consumo de MS total y la producción de leche con respecto a vacas consumiendo solo pasto, ambos parámetros resultan inferiores cuando se comparan dietas basadas en pastura más concentrado vs. ración totalmente mezclada (Bargo *et al.*, 2002a; White *et al.*, 2002; Fontaneli *et al.*, 2005). Una ración totalmente mezclada bien formulada puede superar las limitantes impuestas por

la pastura, permitiendo que vacas de alto mérito genético expresen su potencial de producción (Kolver y Muller, 1998).

3.2.3. Sistemas de alimentación basados en raciones totalmente mezcladas.

Las raciones totalmente mezcladas (TMR) son un sistema de alimentación donde los forrajes conservados y alimentos concentrados son completamente mezclados y de esta forma son ofrecidos a los animales con el fin de entregar una dieta balanceada en cada bocado (Soder y Rotz, 2003). No todas las TMR son iguales ni usan los mismos ingredientes, sino que son elaboradas de acuerdo a los recursos disponibles. Entre los principales ingredientes se encuentran: forrajes conservados (principalmente ensilajes que sirven como base de forraje y henos que permite hacer un aporte de fibra efectiva), concentrados a base de granos de cereales, subproductos proteicos y núcleos vitamínico-minerales. También pueden ser utilizados subproductos de cosecha o de la agroindustria, como residuos de la extracción de aceites de oleaginosas, residuos de la industria cervecera, industria azucarera, industria frutícola, entre otros. En tal sentido, si se tiene en cuenta el valor y la disponibilidad de cada uno de los ingredientes en la región, se puede favorecer el uso de aquellos que sean más favorables tanto logística como económicamente.

El uso de este tipo de dietas para la alimentación de vacas lecheras fue recomendado en países del Hemisferio Norte (principalmente EEUU y Europa) a partir de la década de 1960 y tuvo amplia difusión en países con limitantes ambientales para la producción y/o utilización de pasturas durante gran parte del año. Como ventajas de este sistema de alimentación se destacan la posibilidad de: maximizar el consumo individual, ofrecer una dieta con un aporte balanceado de nutrientes y una óptima relación forraje/concentrado, minimizar la selectividad por componentes individuales, aumentar la producción de leche, un mayor control de problemas digestivos y metabólicos, una mayor exactitud en la formulación y administración si se utiliza adecuadamente y además una TMR basada en ensilaje permite diluir y enmascarar el sabor de ingredientes poco palatables (Coppock, Bath y Harris, 1981; Schingoethe, 2017).

Por otro lado, el uso de TMR tiene algunas desventajas que deben ser tenidas en cuenta al momento de decidir su adopción. Por ejemplo, requiere el uso de algún tipo de equipo para la mezcla y el reparto de la TMR, así como instalaciones para la alimentación de los

animales (por ej., corral o patio de alimentación), para el tratamiento de los efluentes generados y para el almacenamiento de los alimentos a usar, lo cual supone una inversión en capital. Asimismo, al usar dietas TMR es recomendable agrupar las vacas en lotes para un uso más eficiente de la misma, lo que puede no ser posible en tambos que tienen un número reducido de animales y/o disponen de escasa mano de obra (Coppock *et al.*, 1981) y los costos de alimentación, pueden llegar a representar más del 50% del costo total de producción de leche (Short, 2004). Por último, la incidencia de algunos problemas de salud tiende a ser mayor en las vacas confinadas con respecto a aquellas en condiciones de pastoreo: mastitis clínica y alto RCS (Washburn *et al.*, 2002; Fontaneli *et al.* 2005), lesiones podales (Somers *et al.*, 2005) y problemas de parto tales como paresia, distocia y retención de placenta (Bendixen *et al.* 1986).

Estas ventajas y desventajas para la implementación de un sistema de producción de leche basando la alimentación de los animales en dietas TMR pueden ser más o menos relevantes de acuerdo a las características de cada establecimiento, por lo cual se debe hacer un buen análisis económico y técnico para evaluar su posible aplicación y factibilidad financiera y operativa.

En general es de esperar que una mayor productividad se convierta en una mayor rentabilidad del sistema productivo, en este contexto, los mayores costos de implementación de un sistema en confinamiento están al inicio, representado en maquinaria e instalaciones principalmente, inversiones que duran muchos años y que serán compensadas por las mayores producciones de leche. Sin embargo, a este respecto, White *et al.* (2002) menciona que a pesar de una menor producción de leche de animales en pastoreo (comparado con animales alimentados con TMR), los bajos costos de alimentación, la menor tasa de descarte de animales y otros factores económicos indicarían que los sistemas pastoriles bien manejados pueden llegar a ser competitivos con los sistemas en confinamiento.

Finalmente, se podría asumir que la posibilidad de incrementar el consumo total y mejorar el balance de nutrientes consumidos a través del uso de TMR permitiría que las vacas sean capaces de producir de acuerdo a su potencial genético. En este sentido, un uso estratégico de este tipo de dietas en determinados momentos del ciclo productivo de la vaca lechera, como por ejemplo el inicio de la lactancia, y como complemento de una dieta

que incluya pasturas, podría tener un importante impacto sobre el desempeño de los animales (Mendoza *et al.*, 2011).

3.2.4. Sistemas de alimentación combinando TMR y pastura.

Una alternativa de intensificación es la combinación de TMR y pastoreo, lo cual se conoce como ración parcialmente mezclada (PMR, por sus siglas en inglés) debido a que la pastura es cosechada en forma directa por las vacas y no forma físicamente parte de la TMR. Actualmente se percibe a nivel mundial un renovado interés por utilizar PMR (Wales *et al.*, 2013). Al respecto, cabe destacar que un informe elaborado por INTA a partir de un relevamiento de 118 tambos de las principales cuencas lecheras de Argentina reveló que el 48% de los productores lecheros encuestados utiliza PMR (Gastaldi *et al.*, 2015). Este sistema de alimentación semi-confinado podría ser una alternativa útil para los productores lecheros que evalúan la transición hacia la adopción de sistemas confinados y su implementación permitiría obtener ventajas parciales de ambos sistemas (pastoril y confinado). El uso de la pastura reduciría la cantidad de TMR en la ración total y en consecuencia el costo de alimentación (Soriano *et al.*, 2001; White *et al.*, 2002; Fontaneli *et al.*, 2005) pudiendo mejorar la salud y el bienestar de los animales (Arnott *et al.*, 2017). Asimismo, desde el punto de vista del consumidor, la leche producida por vacas alimentadas con pasturas presenta características nutricionales deseables para la salud humana, particularmente en lo que refiere al perfil de ácidos grasos, donde destacan los altos contenidos de ácido ruménico (el cual presenta propiedades anti-cancerígenas; Kay *et al.*, (2004)) y vaccénico (Elgersma, Tamminga y Ellen, 2006).

3.2.4.1. Respuestas productivas.

En la literatura científica se encuentran publicados resultados de diversos estudios que han comparado estos dos sistemas (TMR y pastura). La mayoría de estos estudios evaluaron sistemas que consistían en TMR vs. pastura sin suplementación o TMR vs. alguna combinación de pastura más concentrado o de pastura más TMR y reportaron que las vacas confinadas y alimentadas con TMR incrementaron el consumo de MS total (Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; O'Neill *et al.*, 2011) y la producción de leche (Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; Fontaneli *et al.*, 2005; O'Neill *et al.*, 2011).

Uno de los primeros trabajos evaluando dietas que combinan pasturas y TMR fue el de Bargo *et al.* (2002a) en el que se compararon tres dietas: TMR (100% TMR, sin acceso a pastura), PMR (70% TMR + 30% pastura de gramíneas templadas) y PC (60% pastura + 40% concentrado). Estos investigadores reportaron que las vacas alimentadas con TMR produjeron la mayor cantidad de leche (38,1 kg día⁻¹), grasa (1,24 kg día⁻¹) y proteína (1,13 kg día⁻¹), asociado a un mayor consumo de MS (26,7, 25,2 y 21.6 kg día⁻¹, para TMR, PMR y PC, respectivamente) y EN_L (43,7, 40,2 y 35,3 Mcal día⁻¹, para TMR, PMR y PC, respectivamente), mientras que las del tratamiento PC la menor (28,5, 0,89 y 0,79 kg día⁻¹, para leche, grasa y proteína, respectivamente), siendo el tratamiento PMR intermedio (32,0, 1,06 y 0,93 kg día⁻¹, para leche, grasa y proteína, respectivamente). El contenido de ácidos grasos beneficiosos para la salud humana, en cambio, aumentó a mayor proporción de pastura en la dieta (PC > PMR > TMR) (Bargo *et al.*, 2006).

Sin embargo, pocos trabajos han evaluado distintas proporciones o alternativas de incluir pastura fresca en la dieta de vacas alimentadas con TMR, en un intento de identificar si existe alguna combinación pastura - TMR que pueda desempeñarse tan bien como una dieta 100% TMR en términos productivos, pero que pudiera retener las ventajas de una dieta 100% pastura en términos de calidad de producto.

Por ejemplo, en experimentos de 8 semanas de duración conducidos en otoño y primavera, Vibart *et al.* (2008) examinaron la respuesta productiva de vacas lecheras ante reemplazos crecientes de TMR (control positivo) por raigrás anual. Se evaluaron 4 combinaciones de TMR (%) y pastura (%): 100:0; 85:15; 70:30 y 55:45. En base a los consumos de pastura y TMR observados, las relaciones TMR:pastura (base MS) reales obtenidas en las PMR experimentales fueron levemente diferentes a las planificadas, resultando 79:21, 68:32 y 59:41 en otoño y 89:11, 79:21 y 65:35 en primavera. Los autores reportaron que en otoño, el aumento en la proporción de raigrás anual en estado vegetativo desde 21 hasta 41% del total de la PMR no afectó el consumo total de MS ni la respuesta productiva. En primavera, en cambio, con la misma pastura en un estado más avanzado de madurez y con menor calidad, el aumento de su proporción en la PMR de 11 a 35% redujo el consumo total de MS y la producción de leche y proteína. Este resultado sugiere que el porcentaje máximo de inclusión de pastura que no altere la producción estaría afectado por la calidad de la misma. En ambos casos, la concentración de ácidos grasos beneficiosos para la salud humana aumentó a medida que aumentó el nivel de inclusión de pastura.

A su vez, en un intento de identificar niveles de inclusión óptimos de pastura en la dieta de vacas alimentadas con una TMR, Morales-Almaráz *et al.* (2010) compararon el uso de una dieta TMR *ad libitum* sola o con acceso diario a una pastura de gramíneas y leguminosas por 6 o 12 horas al día y observaron que el consumo de pastura aumentó y el de TMR disminuyó a mayor tiempo de acceso a pastura, por lo que como resultado neto no hubo diferencias en consumo total de MS entre tratamientos. Ello explicó que tampoco se detectaran diferencias en producción de leche ($34,4 \pm 6,3$ kg día⁻¹), aunque el tratamiento con mayor tiempo de acceso a pastura produjo menor cantidad de grasa por día con un perfil de ácidos grasos más saludable.

Con el objetivo de analizar la información disponible hasta la fecha de una manera integrada, las respuestas en producción de leche y sólidos (kg día⁻¹), consumo de MS (CMS, kg día⁻¹) y eficiencia de conversión (EC, kg Leche kg MS⁻¹) en función de distintas proporciones de pastura y TMR (%), obtenidas de las publicaciones revisadas, fueron analizadas por regresión lineal contemplando el efecto del estudio como factor aleatorio. Dicho ajuste contempla el hecho que generalmente hay grandes diferencias entre ensayos, esto es, diferentes estados fisiológicos de las unidades experimentales, diferentes diseños experimentales, diferentes métodos de medición y técnicas de laboratorio, dando lugar a mejores ecuaciones de predicción de los sistemas biológicos y a una descripción más precisa de sus errores de predicción (St-Pierre, 2001).

Cabe aclarar que los animales utilizados en los trabajos revisados fueron de raza Holstein, en inicio o media lactancia y con un nivel de producción promedio al comienzo de los ensayos de $36,3 \pm 6,9$ kg leche vaca⁻¹ día⁻¹. A su vez, las pasturas utilizadas estaban compuestas por gramíneas templadas (anuales o perennes) con una composición química (promedio \pm desvío estándar) de $20,2 \pm 7,5$ % MS, $21,2 \pm 4,9$ % PB, $46,8 \pm 5,6$ % FDN, $23,6 \pm 3,0$ % FDA y $72,3 \pm 9,7$ % DIVMS.

Para la variable consumo de MS total, el modelo final de predicción obtenido fue: CMS total (kg día⁻¹) = $17,45 (\pm 0,66) + 0,069 (\pm 0,009) \times \text{CMS TMR (\%)} (P < 0,01; R^2 = 0,61; n = 36; \text{Figura 10})$.

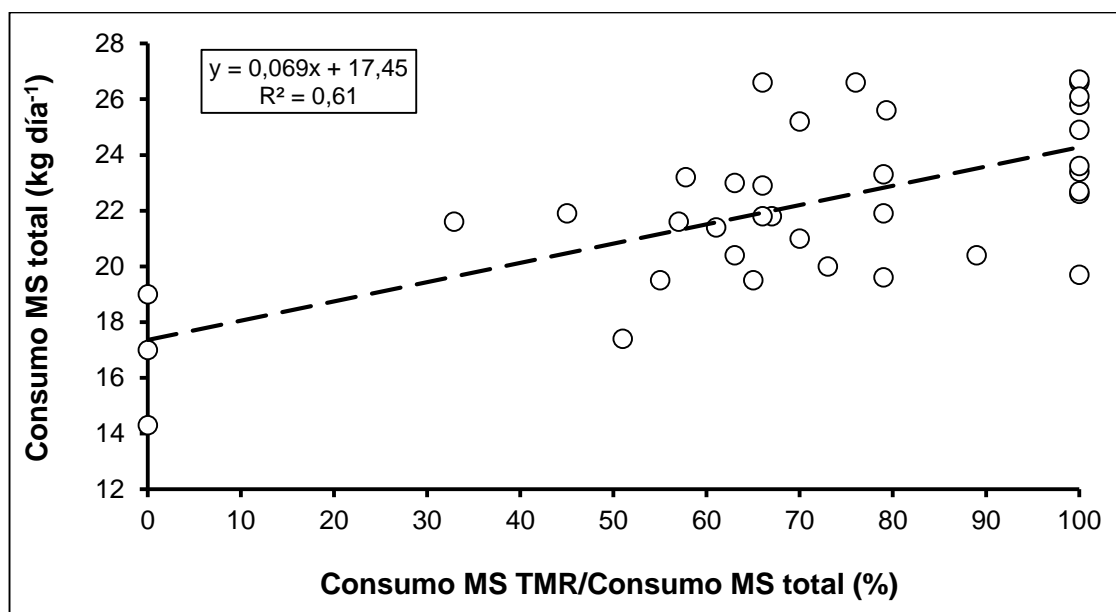


Figura 10: Consumo de MS en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR. Círculos claros corresponden a valores actuales (a partir de Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; Kolver *et al.*, 2002; Fontanelli *et al.*, 2005; Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010; O'Neill *et al.*, 2011; Auldust *et al.*, 2014; Fajardo *et al.*, 2015; Quilaguy, 2015) y recta de regresión corresponde a parámetros estimados después del ajuste para efecto estudio (St-Pierre, 2001).

El modelo indica que el CMS total aumenta $0,69 \text{ kg día}^{-1}$ por cada 10% de incremento en el CMS de TMR, evidenciando un claro efecto de adición. La ordenada al origen sugiere un consumo de MS total de $17,45 \text{ kg día}^{-1}$ cuando la alimentación es sólo a base de pastura, valor levemente inferior (- 5%) al informado por Delagarde *et al.* (2001) en su trabajo de revisión ($18,40 \text{ kg MS día}^{-1}$).

Para producción de leche, el modelo de predicción obtenido fue: $\text{Leche (kg día}^{-1}\text{)} = 23,74 (\pm 1,08) + 0,113 (\pm 0,015) \times \text{CMS TMR (\%)} (P < 0,01; R^2 = 0,60; n = 36; \text{Figura 11})$, indicando un incremento promedio de $1,13 \text{ kg día}^{-1}$ de leche por cada 10% de consumo adicional de TMR. Las vacas consumiendo sólo pastura tendrían una producción de leche estimada de $23,74 \text{ kg día}^{-1}$, valor cercano a la informado por Delaby y Peyraud (1997) para vacas consumiendo pasturas de alta calidad en primavera ($23,20 \text{ kg día}^{-1}$).

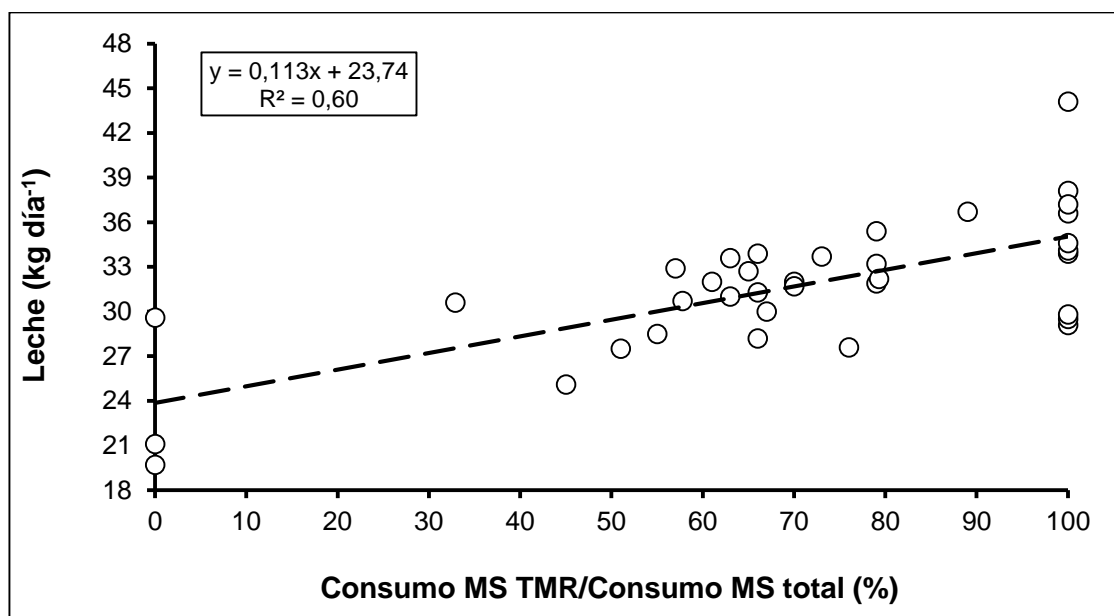


Figura 11: Producción de leche en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR. Círculos claros corresponden a valores actuales (a partir de Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; Kolver *et al.*, 2002; Fontanelli *et al.*, 2005; Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010; O'Neill *et al.*, 2011; Auldíst *et al.*, 2014; Fajardo *et al.*, 2015; Quilaguy, 2015) y recta de regresión corresponde a parámetros estimados después del ajuste para efecto estudio (St-Pierre, 2001).

Vale aclarar que al medir la respuesta productiva de una vaca lechera es fundamental comparar las cantidades de leche producidas con diferente contenido de sólidos, bajo un común denominador. Esto se efectúa mediante la fórmula de Tyrrel y Reid (1965) para corregir leches con diferentes tenores de grasa y proteína: leche corregida por energía (LEC) = $\text{kg leche} \times (383 \times \% \text{grasa} + 242 \times \% \text{proteína} + 783,2) / 3140$.

Para la producción de LEC, el modelo de predicción obtenido fue: $\text{LEC (kg día}^{-1}\text{)} = 22,81 (\pm 0,95) + 0,099 (\pm 0,013) \times \text{CMS TMR (\%)} (P < 0,01; R^2 = 0,60; n = 36; \text{Figura 12})$, señalando un incremento de $0,99 \text{ kg día}^{-1}$ de leche por cada 10% de incremento en el consumo de MS de TMR.

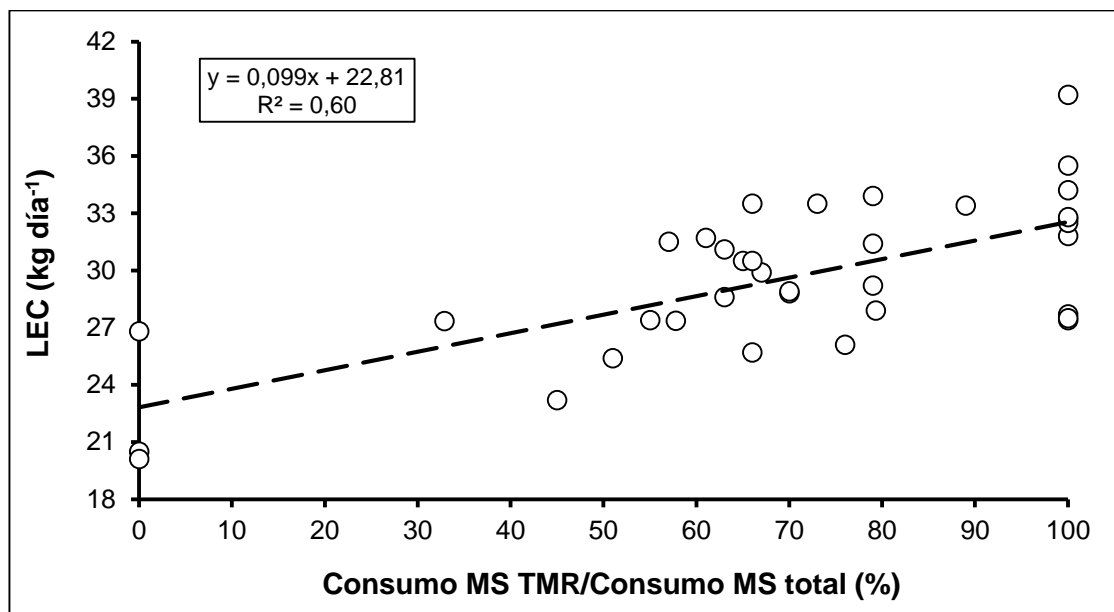


Figura 12: Producción de leche energía corregida (LEC) en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR. Círculos claros corresponden a valores actuales (a partir de Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; Kolver *et al.*, 2002; Fontanelli *et al.*, 2005; Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010; O'Neill *et al.*, 2011; Auldust *et al.*, 2014; Fajardo *et al.*, 2015; Quilaguy, 2015) y recta de regresión corresponde a parámetros estimados después del ajuste para efecto estudio (St-Pierre, 2001).

Se detectó una amplia variación en la respuesta en producción de leche y LEC para los tratamientos 100% TMR (Figuras 11 y 12). Este fenómeno podría estar relacionado al potencial productivo de las vacas utilizadas (mérito genético) en los distintos ensayos y/o a la diferente respuesta del animal a una dieta determinada (interacción genotipo-ambiente). En este sentido, Kolver *et al.* (2002) demostraron que en condiciones de pastoreo las vacas Holstein Neozelandés (HN) tuvieron una mayor EC (3,4%) que la contraparte Americana (HA), mientras que en condiciones de confinamiento y alimentadas con TMR, las vacas HA fueron más eficientes (2,3%) que las vacas HN.

Para producción de grasa, la ecuación de predicción obtenida fue: Grasa (kg día⁻¹) = $0,93 (\pm 0,05) + 0,003 (\pm 0,0005) \times \text{CMS TMR} (\%)$ ($P < 0,01$; $R^2 = 0,85$; $n = 36$; Figura 13), indicando un incremento promedio de 0,03 kg día⁻¹ de grasa butirosa por cada 10% de consumo adicional de TMR.

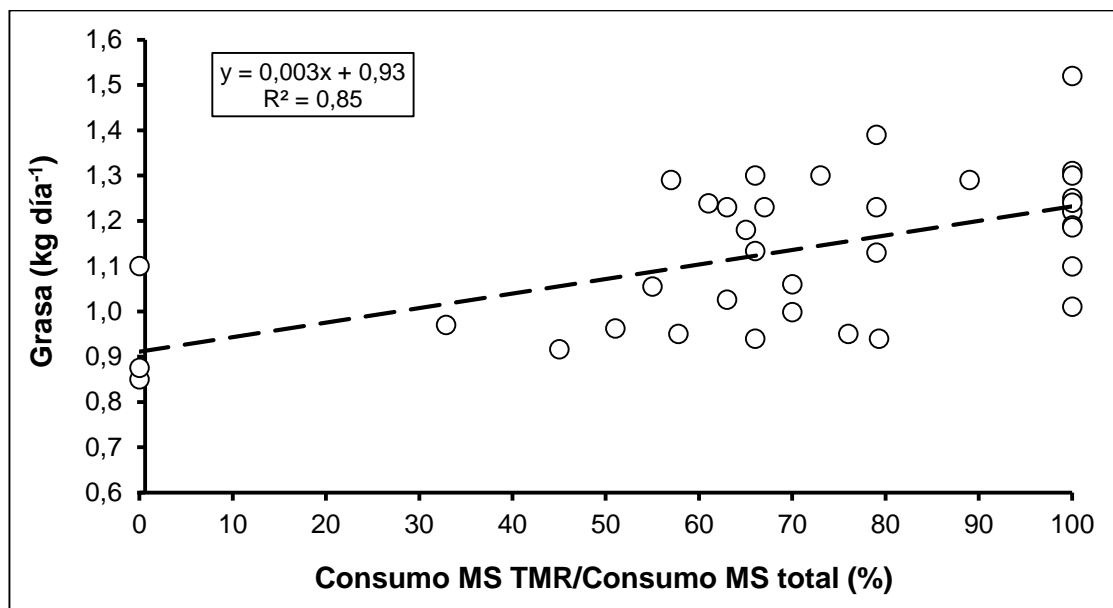


Figura 13: Producción de grasa en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR. Círculos claros corresponden a valores actuales (a partir de Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; Kolver *et al.*, 2002; Fontanelli *et al.*, 2005; Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010; O'Neill *et al.*, 2011; Auldust *et al.*, 2014; Fajardo *et al.*, 2015; Quilaguy, 2015) y recta de regresión corresponde a parámetros estimados después del ajuste para efecto estudio (St-Pierre, 2001).

Mientras que la ecuación de predicción obtenida para producción de proteína fue: Proteína (kg día⁻¹) = 0,72 (±0,04) + 0,004 (±0,0004) x CMS TMR (%) ($P < 0,01$; $R^2 = 0,64$; $n = 36$; Figura 14). El modelo indica que la producción de proteína láctea aumenta 0,04 kg día⁻¹ por cada 10% de incremento en el consumo de TMR.

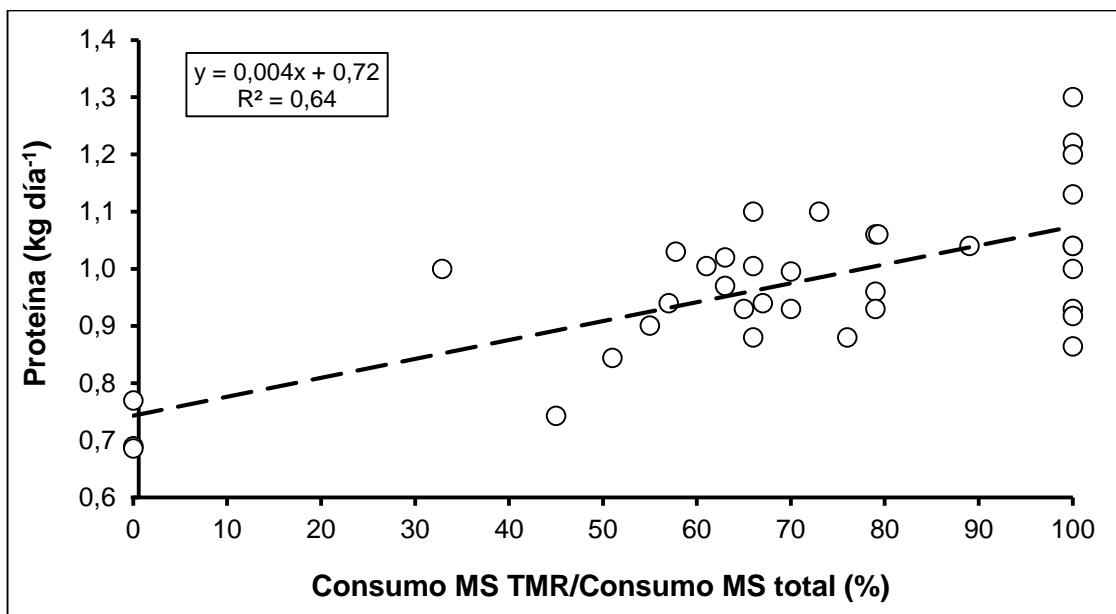


Figura 14: Producción de proteína en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR. Círculos claros corresponden a valores actuales (a partir de Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; Kolver *et al.*, 2002; Fontanelli *et al.*, 2005; Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010; O'Neill *et al.*, 2011; Auldust *et al.*, 2014; Fajardo *et al.*, 2015; Quilaguy, 2015) y recta de regresión corresponde a parámetros estimados después del ajuste para efecto estudio (St-Pierre, 2001).

No se detectó ninguna relación entre el nivel de CMS de TMR y la EC (Figura 15). El modelo de regresión entre estas dos variables resultó no significativo ($P = 0,62$).

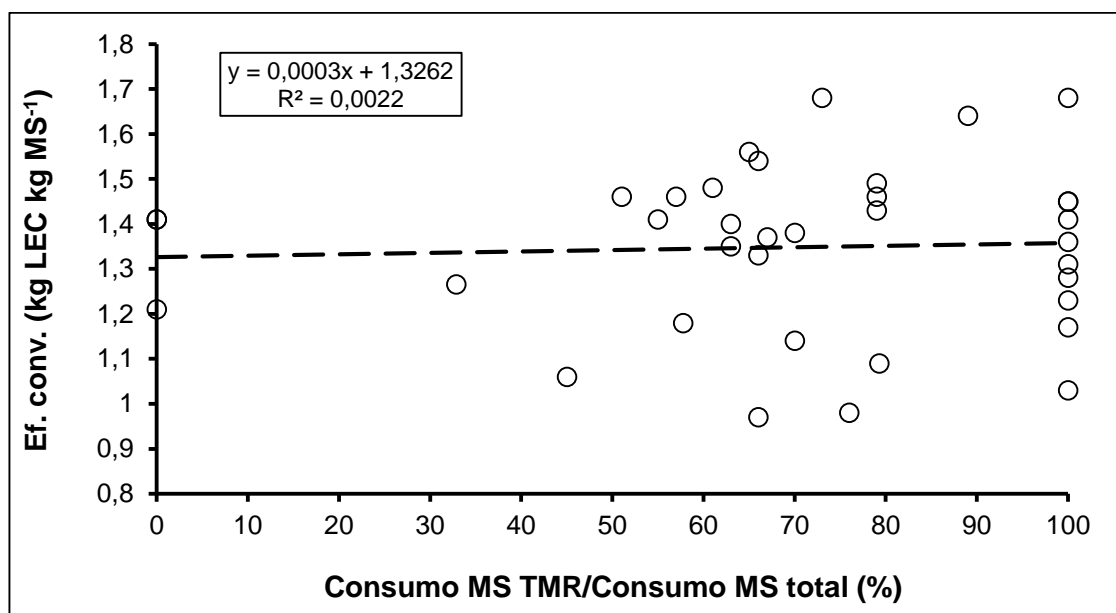


Figura 15: Eficiencia de conversión (EC) en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR. Círculos claros corresponden a valores actuales (a partir de Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; Kolver *et al.*, 2002; Fontanelli *et al.*, 2005; Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010; O'Neill *et al.*, 2011; Auldust *et al.*, 2014; Fajardo *et al.*, 2015; Quilaguy, 2015) y recta de regresión corresponde a parámetros estimados después del ajuste para efecto estudio (St-Pierre, 2001).

El análisis integral de la información disponible indica que la producción de leche y sólidos y el CMS total aumentan linealmente con el nivel de inclusión de TMR en la dieta en reemplazo de pastura, mientras que no se observa ninguna asociación entre la EC y el nivel de consumo de TMR. Esto sugiere que la diferencia en producción de leche a favor de las dietas con mayor proporción de TMR estaría asociada a un mayor CMS. Coincidentemente, Kolver y Muller (1998) indicaron que en vacas de alto mérito genético el 61% de la diferencia en producción de leche a favor de un sistema confinado con suministro de TMR con respecto a uno puramente pastoril se explicaría por el mayor consumo de MS de la TMR, mientras que el costo energético adicional asociado a la actividad de pastoreo y a la eliminación del exceso de urea explicarían sólo el 24% y el 12%, respectivamente.

3.2.4.2. Ambiente y digestión ruminal.

Los trabajos tendientes a examinar el efecto del uso combinado de pastoreo con TMR sobre parámetros de ambiente ruminal (pH, proporciones molares de AGV, concentración de N-NH₃) y la digestión de la MS y de la fibra que contribuirían a explicar la respuesta productiva de los animales con este tipo de dietas, son también escasos (Bargo, Muller, Varga *et al.*, 2002; Vibart *et al.*, 2010).

El pH ruminal de vacas lecheras en pastoreo varía marcadamente durante el día como resultado de los pronunciados patrones de pastoreo con casi la totalidad del consumo de MS de pastura alcanzado en 2 grandes sesiones de pastoreo (al amanecer y al atardecer) (Sheahan, Kolver y Roche, 2011) y cuando consumen pasturas de alta digestibilidad, el pH ruminal promedio es frecuentemente menor a 6,0 (Wales *et al.*, 2006). La baja concentración de FDN sumado a una alta fermentabilidad de la fibra de las pasturas de alta calidad resultan predisponentes a favorecer los bajos valores de pH a nivel ruminal. La magnitud de estas variaciones es mayor cuando las vacas son suplementadas con concentrado dos veces por día durante el ordeño, pudiendo comprometer la digestión de la fibra (Doyle, Francis y Stockdale, 2005).

Por el contrario, el comportamiento ingestivo de las vacas confinadas consumiendo TMR es muy diferente, las vacas comen pequeñas cantidades más frecuentemente y emplean menos tiempo comiendo y más tiempo rumiando (Thorne *et al.*, 2003).

Estas diferencias en los patrones de consumo tienen potencialmente importantes consecuencias sobre la función ruminal, con una rápida caída post-pastoreo del pH ruminal debido al gran volumen de material fermentable y menor producción de saliva a causa de la menor actividad de rumia. Algunos investigadores han sugerido que estas condiciones representan acidosis ruminal subclínica (Hills *et al.*, 2015).

Asimismo, resulta común detectar elevadas concentraciones de N-NH₃, el cual es absorbido a través de las paredes del rumen y posteriormente transportado al hígado para ser transformado en urea. De esta forma es eliminado a través de la orina siendo este un paso metabólico que demanda energía a expensas de la destinada a la producción de leche (Correa y Cuellar, 2004). A su vez, se describen bajas relaciones acetato:propionato en rumen, resultado que suele asociarse a un bajo contenido graso de la leche (Elizalde, Rearte y Santini, 1993; Holden *et al.*, 1994; Bargo *et al.*, 2001). La intensidad de variación de los parámetros descritos está influenciada por las características de las pasturas, ya que las mismas presentan una importante variación en calidad de acuerdo a la estación del año y a las condiciones medioambientales.

A diferencia de la alimentación base pastoril, las TMR permiten proveer a los animales una comida más uniforme a lo largo del año, con niveles de energía, proteína y fibra más balanceados, lo cual tendría potenciales efectos positivos sobre el ambiente ruminal, proporcionando un pH más alto y/o estable con menores concentraciones de N-NH₃ al incluir en la ración forrajes ricos en fibra efectiva y con menor contenido de PB con respecto a las pasturas. El consumo de fibra efectiva presente en las TMR permite incrementar la masticación y salivación elevando la capacidad buffer del rumen mientras la fracción de carbohidratos no estructurales es fermentada.

Pese a los efectos positivos globales enunciados para las TMR, se ha postulado también que la utilización de este recurso alimenticio en animales en pastoreo podría inducir efectos asociativos negativos en el rumen capaces de reducir la digestión de la FDN de la pastura (Dixon y Stockdale, 1999) como consecuencia de una alta participación de concentrados en la formulación de las TMR.

Para evaluar esta hipótesis, Bargo, Muller, Varga et al. (2002) estudiaron el efecto de tres sistemas de alimentación combinando pastura y TMR sobre el ambiente y la digestión ruminal en vacas provistas con fístula ruminal. Los tratamientos fueron: TMR (100% TMR, sin acceso a pastura), PMR (70% TMR + 30% pastura) y PC (60% pastura + 40% concentrado). Los autores reportaron que aunque el pH ruminal promedio resultó similar entre tratamientos ($5,87 \pm 0,04$), se detectó interacción tratamiento x hora de muestreo, indicando que los patrones de variación diaria del pH ruminal difirieron entre tratamientos. Así, en el tratamiento PC se presentó un típico patrón de vacas en pastoreo suplementadas dos veces por día en la sala de ordeño, registrándose un descenso del pH después de cada turno de ordeño (5,80 a las 09:00 h y 5,76 a las 21:00 h). El tratamiento PMR fue el que presentó las mayores fluctuaciones diarias en los valores de pH ruminal (rango de variación: 5,48 a 6,46), mientras que el tratamiento TMR presentó el patrón más constante (rango de variación: 5,57 a 6,17). La concentración de AGV total resultó similar entre tratamientos y promedió $137,5 \text{ mmol L}^{-1}$, resultado compatible con los similares valores de pH ruminal observados. Las proporciones molares de los principales AGV tampoco fueron afectadas por los tratamientos, promediando 63,1, 20,6 y 12,0 mol 100 mol⁻¹, para acetato, propionato y butirato, respectivamente. La concentración de N-NH₃ en el tratamiento PC resultó significativamente mayor con respecto a los tratamientos conteniendo TMR (19,9 vs. 10,2 mg dl⁻¹), resultado consistente con los mayores niveles de urea plasmática y urea en leche en el tratamiento PC reportados en el estudio de respuesta productiva (Bargo *et al.*, 2002a). La combinación de TMR y pastura (tratamiento PMR) incrementó la eficiencia de utilización del nitrógeno dietario con respecto al tratamiento PC, a causa de la reducción en las pérdidas de nitrógeno y el incremento en la producción de proteína láctea con un consumo similar de nitrógeno total (Bargo *et al.*, 2002a). Por último, los autores reportaron que la combinación de TMR y pastura redujo significativamente la fracción total potencialmente degradable de la MS (85,5 vs. 82,3%) y la fracción potencialmente digestible de la FDN (82,1 vs. 75,0%) de la pastura con respecto al tratamiento PC, sugiriendo la presencia de efectos asociativos negativos en el rumen. Las mayores fluctuaciones diarias en los valores de pH ruminal y las menores concentraciones de N-NH₃ registradas en PMR, contribuirían a explicar la menor degradabilidad ruminal de la pastura observada en este tratamiento.

Por su parte, Vibart *et al.* (2010) estudiaron los patrones de fermentación ruminal generados a partir de distintas combinaciones de TMR y pastura utilizando fermentadores

de flujo continuo. Las 4 dietas (tratamientos) evaluadas fueron (base MS): 100:0; 85:15; 70:30 y 55:45 TMR:pastura (raigrás anual). Los autores reportaron que la concentración de AGV total tendió ($P = 0,08$) a incrementar linealmente con la participación creciente de pastura en la dieta. A su vez, las proporciones molares de acetato y propionato decrecieron linealmente, mientras que la proporción molar de butirato y la relación acetato:propionato incrementaron linealmente con el aumento de la proporción de pastura en la dieta. El pH resultó menor en los tratamientos 100:0 y 70:30 TMR:pastura (5,68 y 5,65, respectivamente) con respecto a 85:15 y 55:45 TMR:pastura (5,78 y 5,80, respectivamente). La concentración de N-NH₃ no resultó afectada por los tratamientos. La fermentabilidad real de la MS incrementó linealmente con la relación pastura:TMR. Además, el incremento de la proporción de pastura en la dieta en reemplazo de TMR redujo la producción de metano y aumentó la eficiencia de síntesis de proteína microbiana ruminal y su flujo a duodeno, sugiriendo un mejor aprovechamiento del nitrógeno a nivel de rumen en dietas que incluyen pasturas. Los autores concluyeron que la inclusión de pastura en dietas TMR tuvo un impacto significativo sobre la fermentación ruminal *in vitro* y el uso de nutrientes. Los datos contribuyen a explicar los elevados niveles de producción logrados por las vacas consumiendo dietas similares en un estudio simultáneo (Vibart *et al.*, 2008). La pastura podría reemplazar casi la mitad de una TMR en la dieta total ofrecida (base MS) sin efectos negativos sobre la función ruminal y la respuesta productiva de los animales.

La bibliografía indica que la inclusión de distintas proporciones de pastura en dietas TMR provoca cambios en el ambiente y digestión ruminal. Por lo tanto, los diferentes escenarios nutricionales generados *in vivo* en el ensayo de campo, fueron a su vez simulados en estudios *in situ* con vacas canuladas de rumen.

3.2.5. Efecto del sistema de producción sobre la salud de la glándula mamaria.

La inflamación de la glándula mamaria, conocida como mastitis, es un indicador de enfermedad del sistema mamario. La mastitis puede ser clínica o subclínica. La mastitis clínica es aquella detectable a partir de los signos clínicos, de intensidad variable (dependiendo del grado de enfermedad), que se evidencian al tacto y/u observación de la ubre. Por el contrario, en la mastitis subclínica no hay signos de enfermedad, es decir, la ubre está aparentemente sana y se detecta a partir del recuento de células somáticas (RCS), principalmente células del sistema de defensa que incrementan y actúan en

respuesta a una infección de la glándula mamaria. Debido a que el RCS en la leche aumenta a medida que la inflamación de la ubre empeora, el RCS se usa como un indicador del grado de mastitis (Hand *et al.*, 2012).

Los costos asociados con la mastitis clínica incluyen menor producción, descarte de leche debido al tratamiento con antibióticos, mano de obra, servicio veterinario y tratamiento, y descarte del animal o muerte. A todas estas pérdidas económicas hay que incluirle el efecto de la mastitis clínica sobre la curva de lactancia, que generalmente no se tiene en cuenta y representa una pérdida de producción muy importante. En este sentido, investigadores de la Universidad de Cornell - USA, estimaron que una vaca multípara con un episodio de mastitis clínica alrededor de los 81 días de lactancia, deja de producir 1180 kg de leche, desde el momento de desarrollo de la mastitis y hasta el final de la lactancia, en comparación con una vaca sana (Wilson *et al.*, 2004). Por otro lado, aunque en menor magnitud, la mastitis subclínica también está asociada a mermas en la producción de leche. En relación a lo anteriormente mencionado, otros investigadores (Miller *et al.*, 2004; Durr *et al.*, 2008; Hand *et al.*, 2012) demostraron que la pérdida de producción se incrementa con el aumento en el RCS en leche. Por ejemplo, para un recuento de 100.000 células/ml se estima una caída en la producción del 3%, mientras que para un valor de 500.000 células/ml la merma puede llegar a ser de hasta el 9%.

A pesar de que pocos estudios compararon la prevalencia de mastitis en sistemas confinados y pastoriles, las comparaciones que existen proporcionan evidencia de un aumento de la mastitis en los primeros. La investigación más completa sobre este tema fue un estudio experimental de 4 años de duración realizado en la Universidad Estatal de Carolina del Norte (EEUU) involucrando 504 lactancias (Washburn *et al.*, 2002; White *et al.*, 2002), en el que se evaluaron dos razas (Holstein vs. Jersey), dos bloques de parición (Otoño vs. Primavera) y dos sistemas de alimentación (pastoril con suplementación vs. confinado con TMR). Este estudio reveló que las vacas Holstein confinadas tenían una mayor prevalencia de mastitis (vacas infectadas: 51% vs. 31%), un mayor número de casos de mastitis por vaca (1,1 vs. 0,6) y una mayor tasa de descarte debida a mastitis (9,7% vs. 1,6%), en comparación con las vacas en condiciones de pastoreo. Distintos estudios epidemiológicos han asociado también la falta de acceso a la pastura con un incrementado riesgo de afecciones mamarias. Por ejemplo, Barkema *et al.* (1999) encontraron que en los rodeos lecheros holandeses la ausencia de acceso nocturno a la pastura estaba asociada

con un mayor riesgo de mastitis clínica y, más específicamente, un aumento de la mastitis causada por *Escherichia coli* (OR = 1,3). Asimismo, en un relevamiento realizado en establecimientos lecheros de Vermont (EEUU), Goldberg *et al.* (1992) encontraron una menor ocurrencia de afecciones mamarias (mastitis clínica, edema de ubre y lesiones de los pezones) en los rodeos en condiciones de pastoreo con respecto a los confinados, resultados similares a los reportados por estudios suecos (Bendixen *et al.*, 1986; Bendixen *et al.*, 1988).

Se ha sugerido que la menor incidencia de mastitis en las vacas en condiciones de pastoreo se debe a que están expuestas a menos patógenos ambientales en comparación con las vacas confinadas. En línea con esta sugerencia, un mayor riesgo de presentar elevados recuentos de células somáticas e infecciones intramamarias ha sido asociado con la falta de higiene en ubres y patas (Schreiner y Ruegg, 2003; Ellis *et al.*, 2007; Breen *et al.*, 2009). Asimismo, en un estudio observacional de establecimientos lecheros del Reino Unido en distintos momentos del año, Ellis *et al.* (2007) observaron un menor score de limpieza en las vacas durante el confinamiento invernal que en pastoreo, resultados similares a los observados por Nielsen *et al.* (2011) en rodeos daneses. A pesar de estas tendencias generales, la higiene de las vacas también puede ser deficiente en los sistemas pastoriles, siendo influenciada por factores climáticos y por las condiciones del trayecto hacia y desde las pasturas. Asimismo, la higiene de las vacas puede ser buena dentro de sistemas de confinamiento continuo bien manejados.

Finalmente, evidencia experimental adicional que confirma la reducida salud de la ubre en vacas confinadas está disponible a partir de estudios de respuesta productiva que han registrado el RCS. Por ejemplo, en un experimento de 37 semanas, Fontaneli *et al.* (2005) observaron que las vacas Holstein confinadas tenían un mayor RCS promedio con respecto a los dos grupos de vacas en condiciones de pastoreo (654.000 vs. 223.000 y 364.000 RCS / ml de leche). Coincidentemente, en un estudio de lactancia completa, Vance *et al.* (2012) informaron una tendencia a un mayor RCS en vacas bajo un sistema de confinamiento continuo con respecto a aquellas manejadas en un sistema pastoril. Sin embargo, cabe destacar que varios estudios no lograron detectar diferencias significativas en el RCS entre sistemas confinados y pastoriles (Kolver y Muller, 1998; White *et al.*, 2001b; Bargo *et al.*, 2002a; AbuGhazaleh, Felton y Ibrahim, 2007).

3.2.6. Efecto del sistema de producción sobre el comportamiento reproductivo.

A pesar de que se han publicado numerosos artículos sobre los factores que afectan el comportamiento reproductivo en rodeos lecheros, hay muy pocos comparando sistemas de producción. La mayoría de los estudios que involucran el efecto del sistema de producción sobre el comportamiento reproductivo varían uno o más factores dentro del sistema, pero no comparan entre sistemas de producción.

En general, la bibliografía indica que la producción de leche es mayor en los sistemas confinados con suministro de TMR en comparación con los sistemas pastoriles (Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; White *et al.*, 2002; Fontaneli *et al.*, 2005; Fajardo *et al.*, 2015). Este resultado estaría explicado por el mayor consumo de MS y energía alcanzado en los sistemas confinados (Kolver y Muller, 1998; Bargo *et al.*, 2002a; Fajardo *et al.*, 2015). A su vez, el balance energético negativo (pérdida de PV y CC y concentración plasmática de AGNE) es mayor en los sistemas pastoriles con respecto a los confinados (Kolver y Muller, 1998; Bargo *et al.*, 2002a; Washburn *et al.*, 2002; Fontaneli *et al.*, 2005). Asimismo, la incidencia de algunos problemas de salud tiende a ser mayor en las vacas confinadas con respecto a aquellas en condiciones de pastoreo: mastitis clínica y alto RCS (Bendixen *et al.* 1986; Washburn *et al.*, 2002; Fontaneli *et al.* 2005), laminitis clínica y lesiones podales (Haskell *et al.* 2006; Olmos *et al.* 2009) y problemas de parto tales como paresia, distocia y retención de placenta (Bendixen *et al.* 1986).

Teniendo en cuenta estas diferencias entre los sistemas en cuanto a producción de leche, balance de energía y estatus de salud de los animales, sería de esperar que existieran diferencias en el comportamiento reproductivo.

Esta hipótesis está respaldada por los hallazgos de un experimento de diseño factorial de 2 años de duración realizado en Escocia involucrando 229 vacas Holstein (Pollott y Coffey, 2008), en el que se evaluaron dos líneas de diferente mérito genético para producción de sólidos y dos sistemas de producción contrastantes (confinado vs. pastoril). El mismo reveló que, si bien el patrón de actividad luteal posparto fue superior (inicio más temprano, fases luteales más largas, intervalos interovulatorios más cortos y ovulación tardía menos frecuente) en el sistema pastoril, el comportamiento reproductivo (número de ciclos luteales por preñez, características de la concepción, duración de la gestación) resultó inferior. Las diferencias en la actividad luteal estarían explicadas por las diferencias en las características del balance energético de los 2 sistemas evaluados. A su vez, un

estudio reciente realizado por investigadores irlandeses involucrando 46 vacas Holstein de parición primaveral mostró que el comportamiento sexual de las vacas durante el celo en un sistema confinado difiere significativamente de aquel exhibido en condiciones de pastoreo. Se observó una mayor frecuencia de ocurrencia de 3 conductas asociadas con el celo (dejarse montar, intentar montar otras vacas, olfatear la región ano-genital de otras vacas) en el grupo de vacas en pastoreo con respecto al grupo confinado (Palmer *et al.*, 2012). Como consecuencia de estas diferencias, la eficiencia de detección de celos fue significativamente mayor en las vacas en condiciones de pastoreo, independientemente del método de detección de celo utilizado, aunque la seguridad de la detección de celos no difirió entre tratamientos. En línea con estos resultados, un estudio realizado en la Universidad de Florida (EEUU) con 36 vacas Holstein en lactancia temprana manejadas en confinamiento o sobre pasturas de raigrás anual mostró que las vacas en condiciones de pastoreo tuvieron un pico de concentración de progesterona plasmática (en el primer ciclo posparto), una intensidad del celo (n° de montas recibidas) y una tasa de preñez significativamente mayores con respecto a las vacas confinadas (Boken *et al.*, 2005). Sin embargo, el sistema de producción no tuvo efecto sobre el intervalo parto-inicio de actividad luteal o parto-1° celo, la duración del 1° celo o el número de servicios/concepción.

Un estudio epidemiológico holandés involucrando 3904 rodeos, exploró la relación entre ambiente del rodeo (definido a partir de un conjunto de variables derivadas de los registros de producción) y fertilidad del rodeo a través de un análisis de componentes principales y reveló que los rodeos de alta intensidad (definida como el nivel de producción promedio por vaca) tuvieron intervalos parto-1° servicio más cortos, pero menores tasas de concepción al primer servicio (Windig *et al.*, 2005). Sin embargo, en este estudio no se especificó si el manejo reproductivo fue similar o diferente entre los rodeos, generando efectos confundidos. Asimismo, en un estudio de 4 años de duración realizado en Croacia involucrando 860 vacas lecheras de raza Simmental, las pérdidas de preñez tempranas (días 32 a 86 post-inseminación) fueron significativamente mayores en un sistema confinado (11%) con respecto a un sistema pastoril (5%) y se asociaron con una incrementada pérdida de CC y una mayor producción de leche (Zobel *et al.* 2011). Por su parte, investigadores daneses evaluaron el efecto del sistema de producción (confinado vs. pastoril) sobre la mortalidad de las vacas en 391 rodeos lecheros (> 100 vacas) y concluyeron que la mortalidad fue menor en los sistemas basados en la utilización de

pasturas durante la estación de pastoreo (Burow *et al.*, 2011). Además, el riesgo de mortalidad disminuyó con el aumento del número de horas en pastoreo. Los sistemas pastoriles también mostraron menores tasas de descarte con respecto a los confinados (Washburn *et al.* 2002; White *et al.* 2002).

En contraste con estos resultados, un estudio de 4 años realizado en la Universidad Estatal de Carolina del Norte (EEUU) involucrando 282 vacas Holstein y 222 Jersey, no encontró diferencias significativas en el comportamiento reproductivo entre un sistema confinado con suministro de TMR y un sistema pastoril con suplementación, aunque en el sistema confinado un 10% menos de vacas Holstein sobrevivió hasta una lactancia subsecuente en relación con el sistema pastoril (Washburn *et al.*, 2002). Asimismo, un estudio observacional de 17 rodeos lecheros representativos del Estado de Virginia (EEUU) involucrando distintos tipos de alojamiento no encontró relación entre la tasa de concepción y el sistema de producción (confinado vs. pastoril) (Dransfield *et al.*, 1998). Cabe destacar que en este estudio todos los rodeos evaluados utilizaron la misma metodología de detección de celo (HeatWatch), evitando así posibles efectos confundidos.

En conclusión, la actividad estral y luteal es mayor y la metritis posparto, la mortalidad embrionaria temprana y las tasas de mortalidad y descarte de vacas son menores en los sistemas pastoriles con respecto a los confinados. Sin embargo, hay resultados conflictivos con respecto a los efectos del sistema de producción sobre los índices de concepción.

3.3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.3.1. Lugar experimental y animales.

El ensayo se realizó en el Tambo Experimental de la EEA Rafaela del INTA (Lat. 31° 12' S Long. 61° 30' O Alt. 99 m) desde mediados de Abril a mediados de Julio y constó de un período pre-experimental de 3 semanas (covariable) en el cual todas las vacas recibieron la dieta control (100% TMR) a fin de establecer el consumo de MS potencial vaca⁻¹ día⁻¹ y de un período experimental de 9 semanas.

Para las mediciones de producción y composición de leche, PV y CC, consumo de MS y concentración plasmática de metabolitos y hormonas se utilizaron 40 vacas multíparas de raza Holando Argentino con $2,8 \pm 1,3$ lactancias, 550 ± 63 kg PV, $32,5 \pm 4,0$ kg leche/día y 66 ± 19 días de lactancia. Las mismas fueron estratificadas en grupos de cuatro animales de acuerdo al nivel de producción, número de lactancias y días de ordeño y fueron asignadas aleatoriamente a 4 tratamientos (10 vacas/tratamiento).

Para los estudios de ambiente y cinética de digestión ruminal se utilizaron 4 vacas de la misma raza con una producción de $22,6 (\pm 5,4)$ kg leche/día y $287 (\pm 13)$ días de lactancia provistas de fístula ruminal permanente. Las vacas fueron asignadas a los tratamientos en un diseño en cuadrado latino 4 x 4, con períodos experimentales de 15 días de duración (13 días de acostumbramiento a la dieta y 2 de toma de datos).

Todas las vacas fueron equipadas con transpondedores en el cuello para registrar la producción individual y diaria de leche (ALPRO versión 6.60/ DeLaval, Tumba, Suecia).

3.3.2. Tratamientos.

Los tratamientos consistieron en el suministro de cuatro niveles de TMR y una pastura de avena (*Avena sativa* L.) como complemento para satisfacer el consumo de MS potencial de las vacas según el siguiente protocolo experimental:

T0: 100% TMR sin acceso a pastura (control positivo).

T1: 75% de TMR y 25% de pastura de avena.

T2: 50% de TMR y 50% de pastura de avena.

T3: 25% de TMR y 75% de pastura de avena.

Las vacas en T0 tuvieron acceso *ad libitum* a la TMR. Base MS, la TMR estuvo compuesta por ensilaje de maíz planta entera (35,6%), concentrado pelletizado (28,7%), grano de maíz molido (5,3%), harina de soja (6,5%), grano de soja tostada (5,3%), semilla de algodón (4,9%) y heno de alfalfa (13,7%). Para su formulación se utilizó el programa NRC dairy cattle (2001). La TMR fue preparada diariamente utilizando un equipo mezclador vertical (Mixer Juarez, Modelo 1400) y para su suministro las vacas fueron alojadas en 2 pistas de alimentación con piso consolidado con suelo cal (dry-lot) divididas a su vez en corrales de igual superficie, con disponibilidad de agua a voluntad.

El consumo de MS potencial estimado durante las tres primeras semanas fue utilizado para definir los niveles de TMR de las PMR experimentales y la asignación de pastura (AP, kg MS/vaca/día) mediante un sistema de pastoreo rotativo en franjas diarias. El área de cada franja se calculó estimando la biomasa de forraje disponible previo al inicio del pastoreo y se reguló mediante la utilización de alambrado eléctrico con el objetivo de conseguir la AP deseada según tratamiento. Se fijó para cada PMR experimental una AP de 2 veces el consumo de MS de pastura esperado (Bargo *et al.*, 2003):

$$\text{AP en T1} = 2 \times (\text{T0} \times 0,25).$$

$$\text{AP en T2} = 2 \times (\text{T0} \times 0,50).$$

$$\text{AP en T3} = 2 \times (\text{T0} \times 0,75).$$

Donde T0 representa el consumo de ración observado en la última semana del período pre-experimental ($24,0 \pm 0,65 \text{ kg MS vaca}^{-1} \text{ día}^{-1}$).

En los 2 tratamientos con mayor nivel de TMR en la dieta, la ración fue distribuida en dos ofertas diarias a las 6:00h y 16:00h: 50%/50% y 80%/20%, para T0 y T1, respectivamente. En los restantes tratamientos, T2 y T3, el 100% de la ración fue entregado a las 6:00h.

En los tratamientos que combinaron TMR y pastura, las vacas fueron conducidas a la parcela de pastoreo una vez finalizado el consumo de TMR prefijado.

3.3.3. Mediciones.

3.3.3.1. Biomasa de forraje.

Semanalmente se estimó la disponibilidad forrajera (kg MS ha⁻¹) mediante cortes a ras del suelo con tijera manual en un área delimitada por un marco metálico de 0.125 m², cortando una superficie total de 1 m² en cada muestreo. La muestra total compuesta por 8 submuestras de 0.125 m² fue secada en estufa a 65 °C durante 48 horas para determinar el contenido de MS de la misma. Sobre la base de esta estimación se fijó el área de las franjas diarias según la AP definida para cada tratamiento.

3.3.3.2. Composición química de los alimentos.

Semanalmente se tomaron muestras representativas de la TMR, de los ingredientes que la componen y de la pastura. Estas últimas se obtuvieron en el horizonte de pastoreo en forma manual simulando la selectividad de la vaca (hand-plucking) (Meijs, Walters y Keen, 1982). Todas las muestras fueron secadas en estufa con circulación de aire forzado a 65 °C hasta peso constante para determinar el contenido de MS y molidas en molino tipo Wiley (malla 1 mm). Se determinó el contenido de fibra detergente neutro (FDN; Komarek, 1993), fibra detergente ácido (FDA; AOAC, 1990, # 973.18), extracto etéreo (EE; AOAC, 1998, # 920.39), lignina detergente ácido (LDA; AOAC, 1990, # 973.18), nitrógeno total (método Kjeldhal, AOAC, 1998, # 976.05), proteína bruta (PB; nitrógeno total x 6,25), cenizas (AOAC, 1990, # 942.05) y digestibilidad in vitro de la MS (DIVMS; técnica de fermentación en dos etapas de Tilley y Terry, 1963). El contenido de carbohidratos no estructurales (CNE) fue calculado usando la siguiente ecuación: $100 - (\% \text{ FDN} + \% \text{ PB} + \% \text{ EE} + \% \text{ cenizas})$ (NRC, 2001).

Las muestras de TMR fueron además tamizadas y separadas por tamaño usando el Separador de Partículas Penn State de dos tamices (19 y 8 mm) (Lammers, Buckmaster y Heinrichs, 1996) obteniendo tres fracciones: partículas largas (>19 mm), partículas medianas (<19 mm y >8 mm) y partículas cortas (<8 mm). El contenido de FDN > 8 mm físicamente efectiva (peNDF_{>8}) se determinó como la proporción de partículas retenida en los tamices de 19 y 8 mm del Separador de Partículas Penn State, multiplicado por el contenido de FDN de la TMR (Zebeli *et al.*, 2010).

3.3.3.3. Producción y composición de leche.

La producción de leche fue medida en forma individual y diaria por un sistema de medición de leche DeLaval ALPRO (DeLaval Internacional AB, Tumba, Suecia). La producción de leche de la última semana del período pre-experimental fue utilizada como covariable y se realizaron los análisis físico-químicos, el perfil de ácidos grasos (AG) y de compuestos antioxidantes.

La composición de la leche se evaluó a partir de muestras individuales colectadas semanalmente. Se tomaron dos submuestras de leche a cada vaca en ordeños consecutivos (mañana y tarde) utilizando medidores de leche (DeLaval Internacional AB, Tumba, Suecia), confeccionando luego una muestra única individual (pool) ponderada por la producción respectiva. En cada muestra compuesta se determinó el contenido de grasa butirosa, proteína total, lactosa, sólidos totales (ST), sólidos no grasos (SNG) y urea por espectrofotometría infrarroja (MilkoScan™ Minor; FOSS Electric, Hilleroed, Denmark) según norma ISO 9622 IDF 141 (2013). El contenido de caseína se calculó mediante la fórmula: $6,38 * (N \text{ total} - N \text{ no caseínico})$, previa digestión semi-Micro-Kjeldhal. La producción de leche corregida por energía (LEC) fue calculada según la fórmula de Tyrrel y Reid (1965).

Alícuotas individuales de leche (100 ml) fueron colectadas quincenalmente y se almacenaron a -24°C para la posterior determinación de la composición en ácidos grasos (AG) y compuestos antioxidantes. Sobre cada muestra se efectuó una extracción de lípidos según Luna, Juárez y De La Fuente (2005). Se realizó metilación alcalina de los AG con metóxido de sodio (1%) en metanol anhidro y luego se inyectaron en un cromatógrafo gaseoso marca Perkin-Elmer, modelo Autosystem XL – R 3.5, con inyector PSS (Programmed Temperature Vaporizer), divisor de flujo y detector de ionización de llama (FID). Los ésteres metílicos de los AG se separaron utilizando una columna capilar (WCOT fused silica, 200 m x 0.25 mm i.d., Varian), usando H₂ como gas carrier. Los AG individuales fueron identificados comparando los tiempos de retención relativos con estándares puros (Mix of 37 components AccuStandard, PUFA-2 Animal Source, Supelco, USA and mix of isomers of methyl esters linoleic acid, Supelco, USA). Los resultados analíticos fueron expresados como porcentajes del total de AG. Las vitaminas antioxidantes (α -tocoferol, γ -tocoferol, retinol, β -caroteno y luteína) fueron analizadas mediante la extracción con

saponificación en hexano y posterior separación y cuantificación usando la metodología HPLC de fase reversa con detección a 445 nm para los carotenos y fluorescencia a 296-330 nm para los tocoferoles (Rossetti *et al.*, 2010). La cuantificación fue en base a curvas de calibración realizadas con estándares comerciales de cada compuesto (Sigma-Aldrich, Argentina).

3.3.3.4. Peso vivo y condición corporal.

Las vacas fueron pesadas individualmente con una balanza electrónica cada 2 semanas, luego del ordeño de la mañana e impidiéndoles el acceso al agua. La variación de PV se calculó como la diferencia entre el PV final menos el PV inicial.

Junto con la pesada se determinó la nota de CC por dos observadores independientes usando una escala de 5 puntos (1= excesivamente flaca y 5= excesivamente gorda) con incrementos de 0,25 (Wildman *et al.*, 1982) y el valor analizado fue el resultado promedio de ambos evaluadores.

3.3.3.5. Consumo de materia seca y energía.

El consumo individual de MS total se midió durante la 4^o y 5^o semanas del período experimental sobre 5 vacas de cada tratamiento utilizando Cr₂O₃ como un marcador indigestible en heces. Durante este período las 20 vacas seleccionadas se alojaron en corrales individuales para el suministro de la TMR.

El consumo individual de TMR se determinó por la diferencia entre lo ofrecido y lo rechazado.

El consumo individual de pastura se estimó a partir de la producción de heces de cada animal y de la DIVMS de la pastura. La producción total de heces de cada vaca se calculó a partir de la cantidad de Cr₂O₃ dosificada diariamente (12 gramos por día en dos entregas de 6 gramos en cápsulas de gelatina “triple 0” conteniendo dos gramos cada una) y la concentración de Cr₂O₃ determinada en la MS de las heces. Las cápsulas conteniendo Cr₂O₃ fueron suministradas durante 11 días consecutivos luego de cada ordeño por medio de un dispositivo lanzabolos. Durante los últimos 5 días se recolectaron muestras de heces rectales de cada vaca, dos veces por día, después del ordeño. Con las heces de cada vaca se conformó una muestra compuesta (pool), representativa de todo el período. Cada una de ellas fue secada hasta peso constante (estufa a 60-65 °C con circulación forzada de aire)

y luego molida en molino tipo Wiley (malla 1 mm). La determinación de la concentración de Cr_2O_3 en heces se realizó en el Laboratorio de Química Analítica de la Fac. Cs. Agrarias UNMdP (EEA INTA Balcarce), mediante el método colorimétrico de Kemura y Miller (1970).

La producción de heces asociada a la TMR se calculó como el producto de la indigestibilidad de la TMR (1-DIVMS) por el consumo de TMR. La producción de heces asociada al consumo de pastura se determinó a través de la diferencia entre las heces totales y las heces asociadas al consumo de TMR. El consumo de pastura se estimó a partir del cociente entre la producción de heces asociada a la pastura y la indigestibilidad (1-DIVMS) de la pastura (Hamilton, Ashes y Carmichael, 1992). Se utilizó la siguiente ecuación (Bargo *et al.*, 2002a): Consumo MS pastura en las PMR = [(g Cr/d)/(g Cr/g MS fecal) – consumo MS TMR x (1-DIVMS TMR)] / (1-DIVMS pastura). El consumo de MS total fue calculado como la suma del consumo de MS de TMR y de pastura.

El consumo de energía metabolizable (EM) se estimó para cada vaca con la siguiente ecuación:

$$\text{Consumo EM (Mcal día}^{-1}\text{)} = \text{Consumo TMR} * [\text{EM TMR}] + \text{Consumo pastura} * [\text{EM pastura}]$$

$$\text{Donde: EM (Mcal kg MS}^{-1}\text{)} = 4,4 \text{ Mcal EB/kg MS} * 0,82 * \text{DIVMS}$$

El consumo de energía neta de lactancia (ENL) se calculó como el 64% de la EM (NRC, 2001).

3.3.3.6. Concentración plasmática de metabolitos y hormonas.

Cada 2 semanas, luego del ordeño de la mañana, se tomaron muestras de sangre por punción de vena coccígea. La sangre fue colectada en tubos conteniendo heparina sódica (5 U/ml). El plasma se obtuvo por centrifugación (2000 x g por 15 min a 4°C) y se almacenó a -24°C hasta los análisis de glucosa (Glicemia enzimática, Laboratorio Wiener, Rosario, Argentina), urea (Uremia, Laboratorio Wiener, Rosario, Argentina), ácidos grasos no esterificados (AGNE) (NEFA, Randox Laboratories Ltd., UK), insulina, hormona de crecimiento (GH) y somatomedina C o factor de crecimiento tipo insulina (IGF-I) según se describe en Salado *et al.* (2004).

3.3.3.7. Ambiente y digestión ruminal.

Se utilizó la técnica *in situ* (Mehrez y Ørskov, 1977) de las bolsas de dacrón (de 15,5 x 7,5 cm y una porosidad promedio de 52 µm) suspendidas en el rumen para el estudio de la tasa y extensión de la degradación de la MS y FDN del ensilaje de maíz y de la pastura. El día previo a la incubación de las bolsas se recolectaron muestras de pastura (hand-plucking) y de ensilaje de maíz. Para simular la masticación de las vacas, las muestras de pastura se cortaron a una longitud de aproximadamente 1cm, mientras que las muestras de ensilaje de maíz fueron procesadas en un mortero y tamizadas para homogeneizarlas. Al inicio del período de incubación se introdujeron en el saco ventral del rumen de las vacas fistuladas dos bolsas de cada alimento (ensilaje de maíz y pastura) por horario de muestreo conteniendo 5 gramos MS de muestra. Las bolsas se extrajeron por duplicado para las diferentes horas de incubación (0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 36 y 48 horas). Luego de cada extracción, las bolsitas fueron congeladas (-24 °C) hasta el final de cada período. Posteriormente, fueron descongeladas y lavadas exteriormente bajo corriente de agua fría a fin de arrastrar el material contaminante y el soluble. Luego todas las bolsitas fueron lavadas en lavarropas, secadas en estufa con circulación forzada de aire (60° C durante 48 horas) y pesadas para determinar el contenido de MS del residuo. Sobre el material residual de las bolsas se determinó el contenido de FDN (Komarek, 1993).

Para describir la cinética de desaparición ruminal de la MS se utilizó el modelo de Ørskov y McDonald (1979), utilizando la rutina solver de Excel (Fernández, 2004):

$$p = FS + FI (1 - e^{-(kd * t)})$$

Donde: p = degradabilidad potencial (%), FS = fracción soluble (%), FI = fracción insoluble (%), e = base del logaritmo natural, kd = tasa fraccional de digestión (% hora⁻¹) y t = tiempo de incubación (horas).

Para representar lo que ocurre en condiciones normales de alimentación, se estimó la degradabilidad efectiva de la MS mediante la siguiente fórmula (Ørskov y McDonald, 1979):

$$E = FS + FI (kd / (kd + kp))$$

Donde: E = degradabilidad efectiva (%), FS = fracción soluble (%), FI = fracción insoluble (%), kd = tasa fraccional de digestión (% hora⁻¹) y kp = tasa de pasaje (% hora⁻¹), asumiendo que esta última es de 5 % hora⁻¹ (Van Vuuren *et al.*, 1992).

Para describir la cinética de desaparición ruminal de la pared celular (PC) o FDN se utilizó el modelo propuesto por Mertens y Loften (1980), utilizando la rutina solver de Excel (Fernández, 2004):

$$Y = \text{FPDPC} * e^{-(\text{TFDPC} * (t - \text{TRIDPC}))} + \text{FIPC}$$

Donde: Y= pared celular residual en el tiempo (%), FPDPC= fracción potencialmente digestible de la pared celular (%), e= base del logaritmo natural, TFDPC= tasa fraccional de digestión de la pared celular (% hora⁻¹), t= tiempo de incubación (horas), TRIDPC= tiempo de retardo en el inicio de la digestión de la pared celular (horas) y FIPC= fracción indigestible de la pared celular (%).

La estimación de la degradabilidad efectiva de la FDN se realizó utilizando la fórmula propuesta por Mertens y Loften (1980), asumiendo que la $k_p = 5 \text{ \% hora}^{-1}$ (Van Vuuren *et al.*, 1992):

$$E = (\text{FPDPC} / 100) * (\text{TFDPC} / (\text{TFDPC} + k_p)) * e^{-((k_p / 100) * \text{TRIDPC})}$$

Donde: E= degradabilidad efectiva (%), FPDPC= fracción potencialmente digestible de la pared celular (%), TFDPC= tasa fraccional de digestión de la pared celular (% hora⁻¹), k_p = tasa de pasaje (% hora⁻¹), e= base del logaritmo natural y TRIDPC= tiempo de retardo en el inicio de la digestión de la pared celular (horas).

En los primeros seis horarios de muestreo se extrajeron 200 ml de licor ruminal (saco ventral) de cada vaca fistulada para mediciones de pH, nitrógeno amoniacal (N-NH₃) y ácidos grasos volátiles (AGV). Sobre estas muestras se midió pH con un peachímetro digital portátil ORION modelo 250 A, inmediatamente después de extraído el licor ruminal y previo filtrado con tela tipo quesería. Cien ml del licor filtrado se trasvasaron a frascos de plástico que contenían 1 ml de ácido sulfúrico concentrado y fueron almacenados a -20 °C hasta las determinaciones de N-NH₃ y AGV.

La concentración de N-NH₃ se determinó por titulación con arrastre con vapor, previa alcalinización de las muestras con hidróxido de sodio según se describe en Gaggiotti *et al.* (2007). Para la determinación de AGV, las muestras se purificaron previamente con ácido ortofosfórico (25%) en ácido sulfúrico 0,5 M a razón de 0,5 ml por cada 2 ml de muestra y luego se centrifugaron por 10 min a 5000 g (Friggens *et al.*, 1998). Luego, las muestras fueron inyectadas por un auto-muestreador Robokrom® GC en un Konik 5000B GC

equipado con un detector de ionización de llama. Los AGV se separaron en una columna capilar Nukol (30 m x 0,32 mm d.i. x 0,25 μ m de espesor; Perkin Elmer - Elite FFAP; Part. N9316354). Las temperaturas del inyector y del detector se mantuvieron a 250° y la de la columna a 156°C. Se usó hidrógeno (H₂) como gas carrier y el flujo de la columna se mantuvo a una tasa de 2,4 mL/min. Para las curvas de calibración se usó la mezcla de ácidos volátiles Supelco (Cat. No. 46975-U).

3.3.4. Análisis estadísticos.

Los datos referidos a producción y composición de leche, evolución de PV y CC, concentración de metabolitos y hormonas plasmáticas, perfil de AG y vitaminas fueron analizados según un diseño completamente aleatorizado con observaciones repetidas en el tiempo ajustado por covariable, utilizando el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + W_j + A_{(i)k} + (T \times W)_{ij} + Cov + E_{ijk}, \text{ donde:}$$

Y_{ijk} = variable dependiente, μ = media general, T_i = efecto tratamiento, W_j = efecto semana de muestreo, $A_{(i)k}$ = efecto aleatorio de animal dentro de tratamiento, $(T \times W)_{ij}$ = efecto de la interacción tratamiento x semana de muestreo, Cov = covariable y E_{ijk} = error residual.

Los datos de ambiente y digestión ruminal fueron analizados según un diseño en cuadrado latino 4 x 4, utilizando el siguiente modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + C_i + P_j + A_{(i)k} + T_l + H_m + (T \times H)_{lm} + E_{ijklm}, \text{ donde:}$$

Y_{ijklm} = variable dependiente, μ = media general; C_i = efecto del cuadrado i; P_j = efecto del período j; $A_{(i)k}$ = efecto aleatorio del animal k dentro del cuadrado i; T_l = efecto del tratamiento l, H_m = efecto de la hora de muestreo m, $(T \times H)_{lm}$ = efecto de la interacción tratamiento x hora de muestreo y E_{ijklm} = error residual.

Los datos de consumo y variación de PV se analizaron por medio de un modelo a un criterio de clasificación (tratamiento):

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}, \text{ donde:}$$

Y_{ij} = observación correspondiente al j-ésimo animal, en el i-ésimo tratamiento, μ = media general del ensayo, T_i = efecto del tratamiento i y E_{ij} = error residual asociado a la ij observación.

Cuando se detectaron efectos significativos ($P < 0,05$) de los tratamientos, las comparaciones entre medias se realizaron mediante el test para medias ajustadas de Tukey-Kramer ($\alpha = 0,05$).

Adicionalmente, se probaron los efectos lineales y/o cuadráticos de los niveles de TMR mediante contrastes ortogonales ($\alpha = 0,05$).

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS (2010).

3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.4.1. Composición química de los alimentos.

Los valores promedio de composición química de las pasturas de avena y de la TMR utilizadas en el ensayo se presentan en el Cuadro 19. La composición química del concentrado pelletizado fue $90,0 \pm 0,8$ % MS, $92,8 \pm 0,6$ % MO, $17,0 \pm 1,1$ % PB, $15,0 \pm 1,0$ % FDN, $5,0 \pm 0,4$ % FDA, $6,0 \pm 0,5$ % EE y $88,2 \pm 2,3$ % DIVMS. La biomasa aérea promedio de las pasturas de avena fue 2540 ± 343 kg MS ha⁻¹.

Cuadro 19: Composición química de los alimentos utilizados¹

| Componentes | Pastura | TMR |
|------------------------|-------------------|----------------|
| MS (%) | $17,8 \pm 1,6$ | $56,1 \pm 3,1$ |
| | % de la MS | |
| MO | $88,2 \pm 1,1$ | $92,4 \pm 0,6$ |
| DIVMS | $77,6 \pm 5,1$ | $75,4 \pm 3,5$ |
| PB | $20,5 \pm 1,7$ | $16,1 \pm 1,3$ |
| FDN | $43,5 \pm 2,8$ | $36,0 \pm 3,0$ |
| peNDF _{>8} | n.d. ² | $20,1 \pm 1,9$ |
| FDA | $20,5 \pm 1,3$ | $18,4 \pm 1,6$ |
| EE | $4,8 \pm 0,4$ | $5,4 \pm 0,4$ |

¹Valores expresados a través del promedio \pm el desvío estándar. ²n.d. = no determinado. MS = materia seca; MO = materia orgánica; DIVMS = digestibilidad *in vitro* de la MS; PB = proteína bruta; FDN = fibra detergente neutro; FDA = fibra detergente ácido; EE = extracto etéreo; peNDF_{>8} = FDN > 8 mm físicamente efectiva, medida como el contenido de FDN de la TMR multiplicado por el porcentaje de partículas retenido en los tamices de 19 y 8 mm del Separador de Partículas Penn State (Zebeli *et al.*, 2010).

El contenido de MS promedio de la pastura se ubicó dentro del rango crítico (15-18%) que afectaría el consumo (Verité y Journet, 1970). A su vez, el tenor de FDN promedio del forraje (43,5%) estuvo muy por encima de los valores considerados adecuados (34-36%) para maximizar el consumo de MS en vacas lecheras con una producción similar a la registrada en el presente estudio (Mertens, 1994). Estos resultados contribuirían a explicar la disminución en el consumo de MS total a medida que aumentó la participación de pastura en la dieta en los tratamientos T1, T2 y T3 (Cuadro 21).

El contenido de PB de la pastura estuvo en cambio dentro del rango de 150-250 g kg MS⁻¹ propuesto por Minson (1990) a los fines de obtener elevados coeficientes de

digestibilidad de la MS y el valor promedio de digestibilidad resultó elevado. Tomados en conjunto, los resultados indicaron una alta calidad aparente de la pastura siendo comparables a los obtenidos por Vibart *et al.* (2008) para una pastura de raigrás anual en otoño-invierno. Los contenidos de MS y de FDN resultaron a su vez potencialmente limitantes del consumo.

La calidad de la TMR utilizada (Cuadro 19) resultó consistente con lo informado en otros estudios (Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; Vibart *et al.*, 2008; Fajardo *et al.*, 2015). El contenido de $\text{peNDF}_{>8}$ promedio de la TMR (20,1%) se ubicó por encima del valor mínimo requerido (18,5%) para prevenir el desarrollo de acidosis ruminal subaguda (Zebeli *et al.*, 2012).

3.4.2. Producción y composición de la leche.

Los contrastes revelaron incrementos lineales para la mayoría de las variables analizadas ante consumos crecientes de TMR en reemplazo de pastura, excepto para la concentración de grasa y proteína que resultaron similares entre tratamientos. No se detectaron efectos cuadráticos para ninguna de las variables de producción y composición de leche analizadas (Cuadro 20). La producción de leche aumentó significativamente con el nivel de inclusión de TMR en la dieta (Cuadro 20). Las vacas del grupo T0 produjeron 6,5%, 20,4% y 27,6% más leche que aquellas de los grupos T1, T2 y T3, respectivamente. Bargo *et al.* (2002a) informaron que vacas consumiendo TMR *ad libitum* produjeron 19% más leche que vacas consumiendo una PMR compuesta por 70% de TMR y 30% de pastura, efecto que estaría explicado por diferencias en el consumo de energía y en los mayores requerimientos de energía para mantenimiento relacionados con la actividad de pastoreo. Utilizando las ecuaciones desarrolladas por el NRC (2001), Bargo *et al.* (2002a) estimaron que los requerimientos de energía para mantenimiento en las vacas del grupo PMR fueron 2,5 Mcal mayores con respecto a las vacas consumiendo TMR. Asumiendo un contenido de 0,64 Mcal ENI/kg de leche, el costo energético de la actividad de pastoreo resultaría equivalente a 3,9 kg leche día⁻¹ o el 64% de la diferencia en producción de leche entre tratamientos (Bargo *et al.*, 2002a).

En el presente estudio, puede estimarse (NRC, 2001) que los requerimientos de energía para mantenimiento se incrementaron 0,51, 1,00 y 1.25 Mcal día⁻¹ en las vacas de los grupos T1, T2 y T3, respectivamente, con respecto a T0. Esto representaría potencialmente

0,79, 1,56 y 1,95 kg de leche para las vacas en T1, T2 y T3, respectivamente. La disminución observada en el consumo de energía (Cuadro 21) más el costo energético adicional asociado a la actividad de pastoreo podrían explicar la diferencia entre tratamientos en producción de leche (Cuadro 20). Coincidentemente, Kolver y Muller (1998) indicaron que en vacas de alto mérito genético el 61% de la diferencia en producción de leche entre un sistema puramente pastoril y uno confinado con suministro de TMR se explicaría por el menor consumo de MS de las vacas en pastoreo y el 24% estaría explicado por el costo energético adicional asociado a la actividad de pastoreo.

Cuadro 20: Producción y composición de leche en vacas lecheras alimentadas con 100% TMR (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura.

| Variable | Tratamientos ¹ | | | | EEM | <i>P</i> < | | |
|------------------------------|---------------------------|--------------------|--------------------|---------------------|-------|-------------------|----------------|----------------|
| | T0 | T1 | T2 | T3 | | Trat ² | L ³ | C ³ |
| Leche, kg d ⁻¹ | 34,2 ^a | 32,1 ^b | 28,4 ^c | 26,8 ^d | 0,30 | 0,01 | 0,01 | 0,10 |
| LEC, kg d ⁻¹ | 34,3 ^a | 31,8 ^b | 27,9 ^c | 26,6 ^d | 0,33 | 0,01 | 0,01 | 0,10 |
| Grasa, kg d ⁻¹ | 1,35 ^a | 1,25 ^a | 1,10 ^b | 1,04 ^b | 0,03 | 0,01 | 0,01 | 0,62 |
| Grasa, % | 3,92 | 3,90 | 3,91 | 3,80 | 0,07 | 0,62 | 0,27 | 0,50 |
| Proteína, kg d ⁻¹ | 1,18 ^a | 1,11 ^a | 0,96 ^b | 0,92 ^b | 0,02 | 0,01 | 0,01 | 0,55 |
| Proteína, % | 3,44 | 3,48 | 3,39 | 3,43 | 0,05 | 0,69 | 0,67 | 0,99 |
| Lactosa, % | 5,05 ^a | 5,04 ^a | 4,99 ^{ab} | 4,89 ^b | 0,04 | 0,02 | 0,01 | 0,24 |
| ST, % | 13,14 | 13,15 | 13,00 | 12,88 | 0,10 | 0,21 | 0,05 | 0,49 |
| SNG, % | 9,24 ^{ab} | 9,28 ^a | 9,09 ^{bc} | 9,07 ^c | 0,06 | 0,03 | 0,01 | 0,52 |
| Urea, % | 0,034 ^b | 0,038 ^a | 0,034 ^b | 0,035 ^{ab} | 0,001 | 0,01 | 0,96 | 0,17 |
| Caseína, % | 2,63 ^{ab} | 2,65 ^a | 2,58 ^{ab} | 2,57 ^b | 0,02 | 0,02 | 0,01 | 0,44 |
| RCS | 5,27 | 5,24 | 5,23 | 5,15 | 0,12 | 0,93 | 0,59 | 0,67 |

¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Efecto tratamiento. ³Contrastes: L = lineal y C = cuadrático. ^{a,b,c,d}LSMeans dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (Tukey-Kramer, *P* < 0,05). LEC = leche energía corregida; ST = sólidos totales; SNG = sólidos no grasos; RCS = recuento de células somáticas = log₁₀ (RCS).

Puesto que las concentraciones de grasa y proteína no fueron afectadas por los tratamientos, las mayores producciones observadas en T0 y T1 con respecto a T2 y T3 se explican por la mayor producción de leche observada (Cuadro 20). El reemplazo de TMR por una pastura de raigrás anual en primavera no modificó el contenido de sólidos, pero

generó una mayor producción de grasa y proteína láctea cuando la proporción de TMR en la ración total fue de 100 y 85% respecto a tratamientos con 70% y 55% de TMR en la MS total consumida (Vibart, 2006).

La interacción tratamiento x semana resultó significativa ($P < 0,01$) para la producción de leche corregida (LEC) por energía (Figura 16). Durante las primeras 5 semanas del período experimental, la producción de LEC resultó mayor en los dos tratamientos con mayor proporción de TMR (T0 y T1) mientras que a partir de la 6ª semana la producción registrada en TMR-100% (T0) superó a los demás tratamientos.

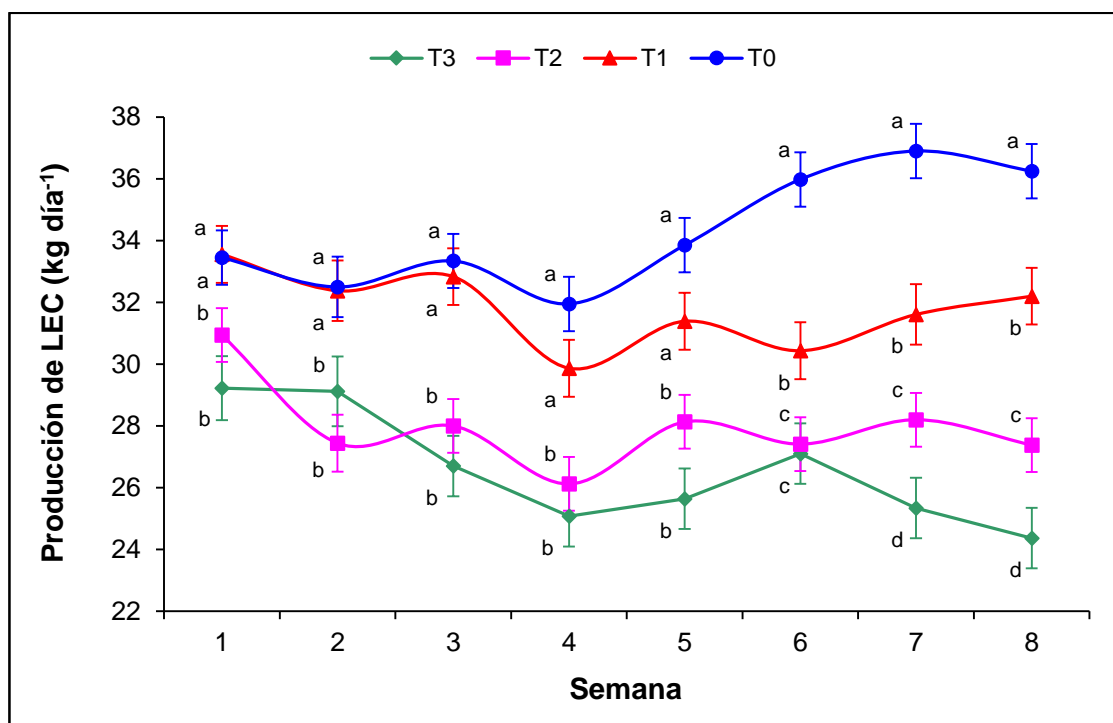


Figura 16: Producción de leche energía corregida (LEC) en vacas lecheras alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura.

En pasturas de raigrás anual en primavera, Vibart *et al.* (2008) también reportaron un incremento lineal en la producción de leche (desde 32,7 hasta 36,6 kg día⁻¹), de leche corregida al 4% de grasa (desde 30,8 hasta 32,6 kg día⁻¹) y de la secreción de proteína (desde 0,93 hasta 1,04 kg día⁻¹) a medida que se incrementó la proporción de TMR en la MS total consumida. Según los autores, este incremento en producción de leche estaría

explicado por el mayor consumo de energía y la disminución en el gasto energético asociado a la actividad de pastoreo.

El análisis de regresión lineal de la información disponible hasta la fecha de niveles de pastura y TMR en la ración total y su efecto sobre la respuesta productiva, indicó un incremento promedio de 1,13 kg día⁻¹ de leche y de 0,99 kg día⁻¹ de LEC por cada 10% de consumo adicional de TMR ($P < 0,01$; $R^2 = 0,60$; $n = 36$; Figuras 11 y 12). Los resultados obtenidos en este estudio fueron comparados con los modelos de predicción obtenidos a partir de datos de la bibliografía (Figuras 17 y 18).

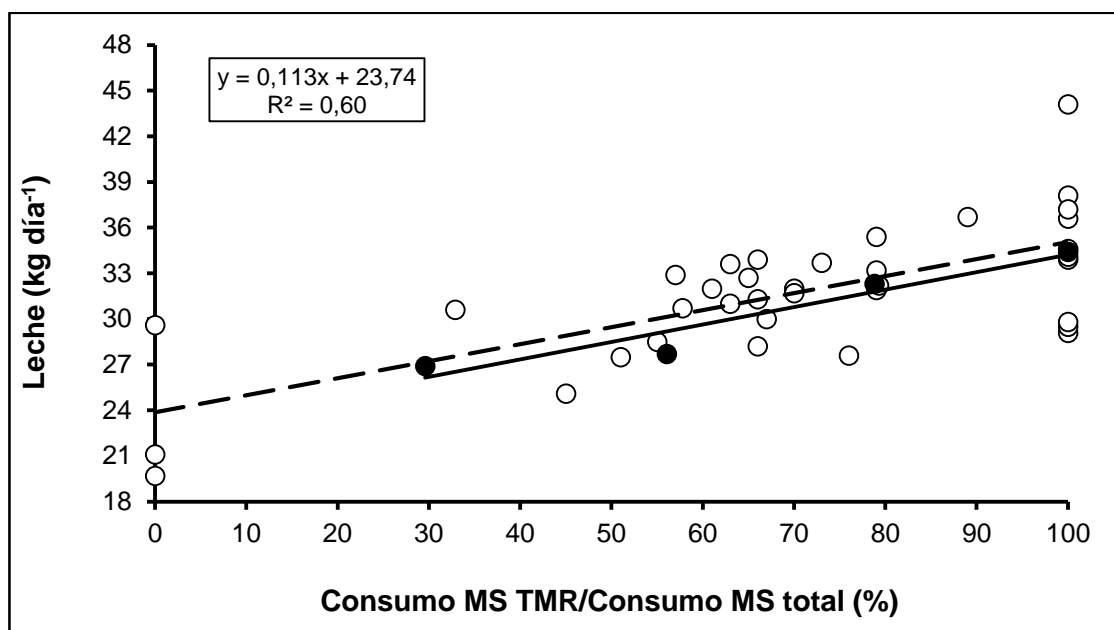


Figura 17: Producción de leche en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR. Línea discontinua y círculos claros (a partir de Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; Kolver *et al.*, 2002; Fontanelli *et al.*, 2005; Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010; O'Neill *et al.*, 2011; Auldism *et al.*, 2014; Fajardo *et al.*, 2015; Quilaguy, 2015) y línea continua con círculos negros (datos de este estudio).

Cabe destacar que los resultados de producción de leche y LEC observados en el presente experimento (líneas continuas en Figuras 17 y 18) se ajustaron a los modelos estimados a partir de datos de la bibliografía (líneas discontinuas en Figuras 17 y 18), siendo sus rectas paralelas y coincidentes (tanto el efecto ensayo como la interacción ensayo x respuesta resultaron no significativos, $P > 0,05$).

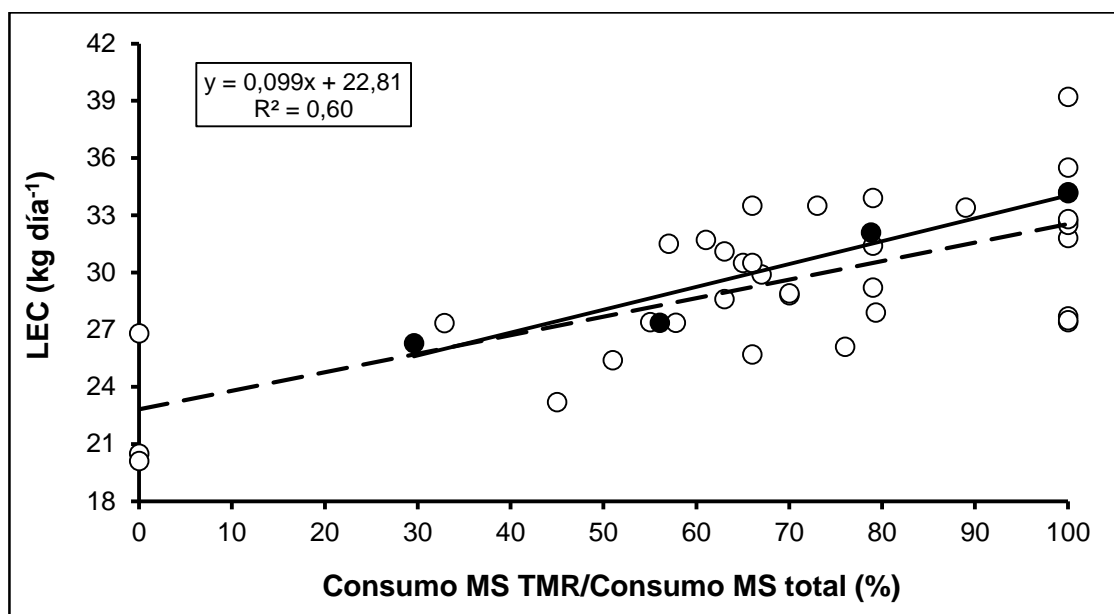


Figura 18: Producción de leche energía corregida (LEC) en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR. Línea discontinua y círculos claros (a partir de Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; Kolver *et al.*, 2002; Fontanelli *et al.*, 2005; Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010; O'Neill *et al.*, 2011; Auldist *et al.*, 2014; Fajardo *et al.*, 2015; Quilaguy, 2015) y línea continua con círculos negros (datos de este estudio).

Puede también observarse una amplia variación de respuesta para los tratamientos 100% TMR (Figuras 17 y 18), fenómeno que podría estar relacionado al mérito genético de las vacas utilizadas y/o a la interacción genotipo-ambiente, es decir a la diferente respuesta del animal a una dieta determinada (Kolver *et al.*, 2002).

Asimismo, los resultados de producción de sólidos obtenidos fueron comparados con los modelos de predicción obtenidos a partir de datos de la bibliografía (Figuras 19 y 20).

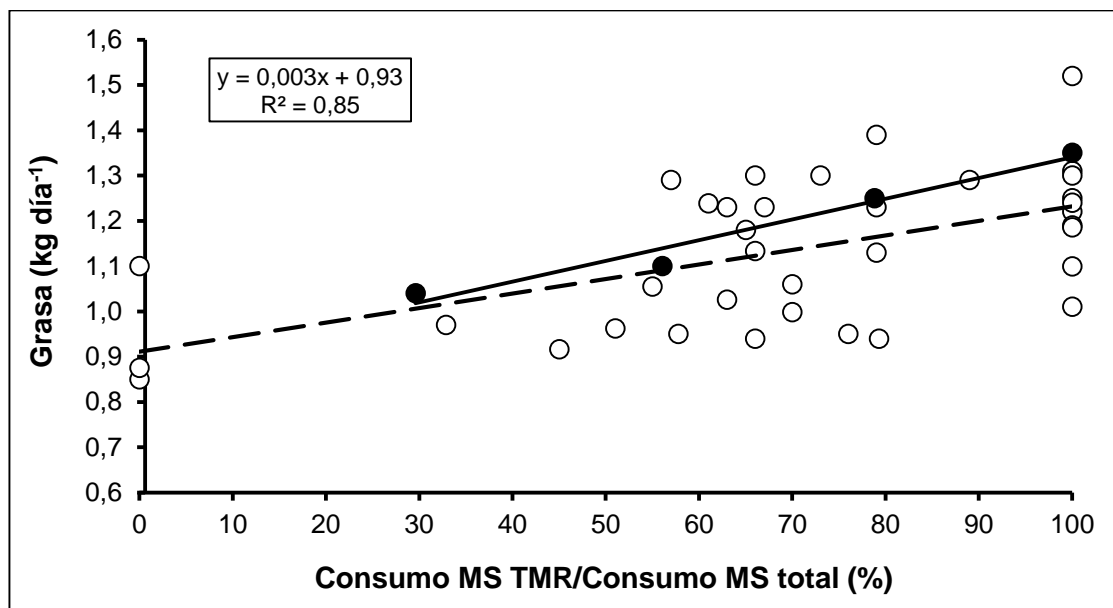


Figura 19: Producción de grasa en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR. Línea discontinua y círculos claros (a partir de Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; Kolver *et al.*, 2002; Fontanelli *et al.*, 2005; Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010; O'Neill *et al.*, 2011; Auldism *et al.*, 2014; Fajardo *et al.*, 2015; Quilaguy, 2015) y línea continua con círculos negros (datos de este estudio).

Similarmente, los resultados de producción de grasa y proteína observados en el presente estudio (líneas continuas en Figuras 19 y 20) se ajustaron también a los modelos estimados a partir de datos de la bibliografía (líneas discontinuas en Figuras 19 y 20), siendo sus rectas paralelas y coincidentes.

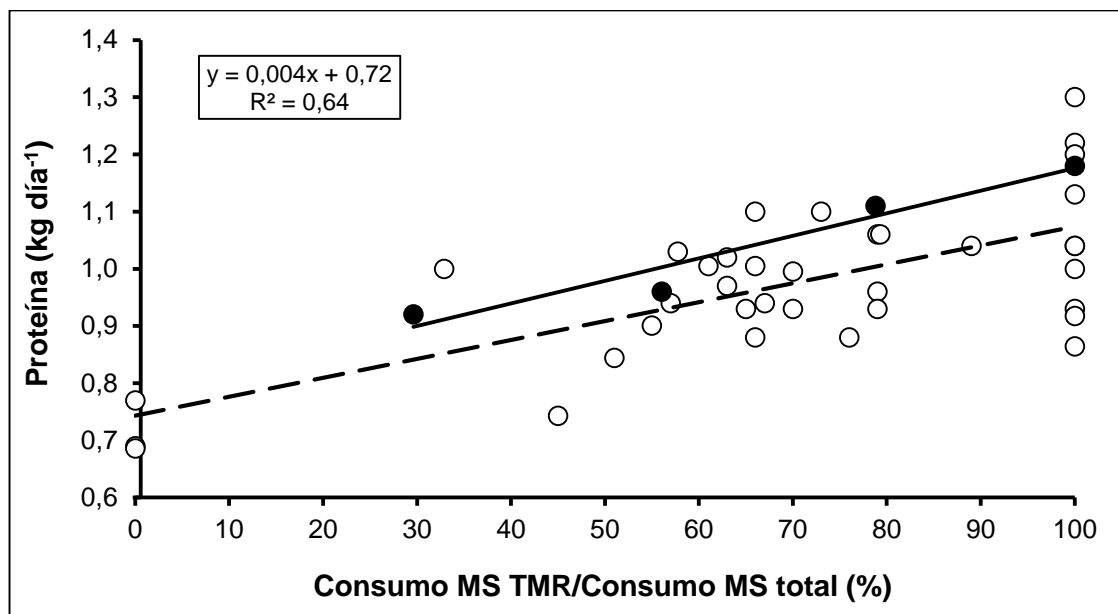


Figura 20: Producción de proteína en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR. Línea discontinua y círculos claros (a partir de Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; Kolver *et al.*, 2002; Fontanelli *et al.*, 2005; Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010; O'Neill *et al.*, 2011; Auldism *et al.*, 2014; Fajardo *et al.*, 2015; Quilaguy, 2015) y línea continua con círculos negros (datos de este estudio).

El recuento de células somáticas en la leche se utiliza como un indicador del grado de mastitis, debido a que aumenta a medida que la inflamación de la ubre empeora. En este estudio, el recuento de células somáticas no fue afectado por los tratamientos (Cuadro 20). Este resultado está en línea con lo informado por otros autores (Kolver y Muller, 1998; Bargo *et al.*, 2002a; AbuGhazaleh *et al.*, 2007) quienes no detectaron diferencias significativas entre sistemas pastoriles vs. confinados. Green, Schukken y Green (2006) encontraron evidencia de un efecto de dilución del recuento de células somáticas en vacas de alta producción sin inflamación intramamaria. Puesto que en T0 y T1 las vacas produjeron más leche (Cuadro 20), diferencias reales en el recuento de células somáticas podrían en parte estar enmascaradas por un efecto de dilución.

3.4.3. Consumo de MS y energía.

De acuerdo a lo esperado el consumo de pastura aumentó ante la reducción de la proporción de TMR en la ración impuesta por los tratamientos, pero el consumo total disminuyó ante el reemplazo de TMR por forraje fresco en pastoreo (Cuadro 21). En

consecuencia, las relaciones TMR/pastura reales obtenidas en las PMR experimentales fueron levemente diferentes a las pre-planeadas, resultando de 79:21, 56:44 y 30:70 para T1, T2 y T3, respectivamente. Este resultado es coincidente con el reportado por Vibart *et al.* (2008) en un ensayo comparable. Los autores citados postularon además que la reducción del consumo de MS en los grupos de vacas consumiendo PMR con respecto al grupo 100% TMR podría explicarse por una restricción en el tiempo de pastoreo y una modificación del patrón normal de pastoreo impuesto por los horarios de encierro de las vacas como consecuencia de la implementación de los diferentes tratamientos lo que afectaría el consumo de pastura. Estos hipotéticos efectos fueron probados por Fajardo *et al.* (2015) comparando una o dos sesiones de pastoreo cuando suministraron una PMR compuesta por 50% de pastura y 50% de TMR. Las vacas del grupo con mayor tiempo de acceso a la pastura (6 h post-ordeño AM y 3 horas post-ordeño PM) pastorearon 50 minutos más con respecto al grupo con acceso restringido (6 h post-ordeño AM) logrando un mayor consumo de MS de pastura.

Cuadro 21: Consumo de MS y EN_L en vacas lecheras alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura.

| Variable | Tratamientos ¹ | | | | EEM | P < ² |
|---|---------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|------|------------------|
| | T0 | T1 | T2 | T3 | | |
| MS, kg d ⁻¹ | | | | | | |
| Avena | | 4,75 ^c | 9,22 ^b | 13,84 ^a | 0,54 | 0,01 |
| TMR | 24,09 ^a | 17,65 ^b | 11,77 ^c | 5,86 ^d | 0,29 | 0,01 |
| Total | 24,09 ^a | 22,40 ^{ab} | 21,00 ^{bc} | 19,70 ^c | 0,54 | 0,01 |
| EN _L ³ , Mcal d ⁻¹ | | | | | | |
| Avena | | 8,51 ^c | 16,52 ^b | 24,80 ^a | 0,97 | 0,01 |
| TMR | 41,95 ^a | 30,74 ^b | 20,50 ^c | 10,20 ^d | 0,51 | 0,01 |
| Total | 41,95 ^a | 39,25 ^{ab} | 37,02 ^{bc} | 35,00 ^c | 0,96 | 0,01 |
| Eficiencia de conversión | | | | | | |
| Leche kg MS ⁻¹ | 1,48 | 1,54 | 1,43 | 1,46 | 0,08 | 0,80 |
| LEC kg MS ⁻¹ | 1,42 | 1,50 | 1,46 | 1,43 | 0,07 | 0,84 |

¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMMeans (EEM). ²Efecto tratamiento. ^{a,b,c}LSMeans dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (Tukey-Kramer, $P < 0,05$). ³Valores de EN_L para TMR y avena: 1,74 y 1,79 Mcal kg MS⁻¹, respectivamente.

Al igual que para las variables descritas anteriormente, los resultados de consumo de MS total obtenidos (línea continua en Figura 21) se ajustaron al modelo estimado a partir de datos de la bibliografía (línea discontinua en Figura 21), siendo sus rectas paralelas y coincidentes.

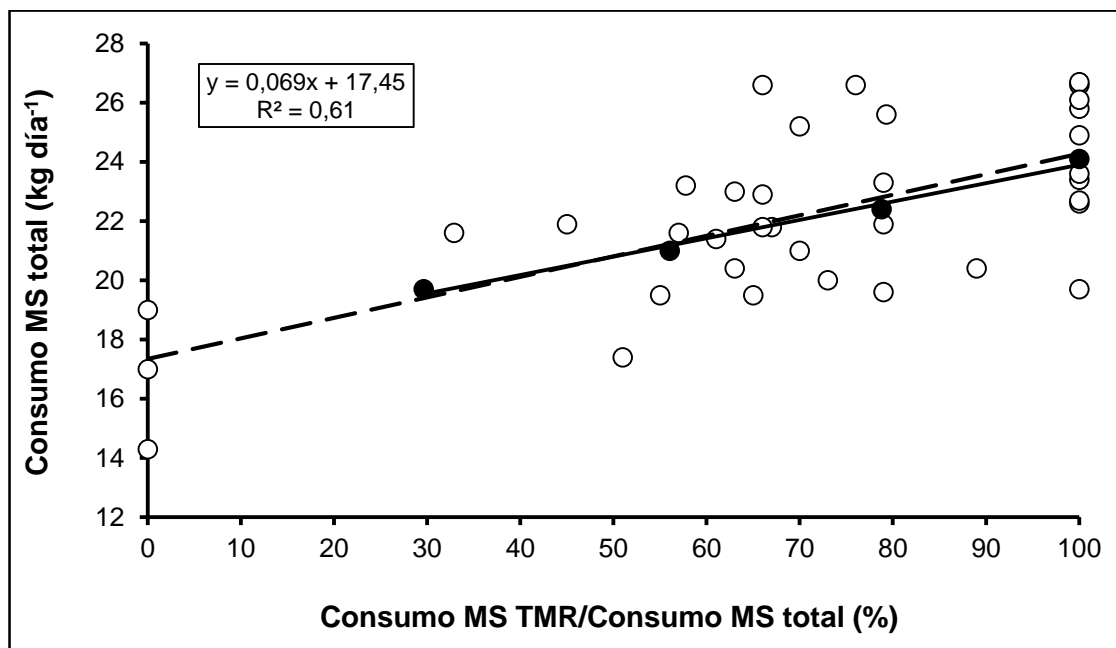
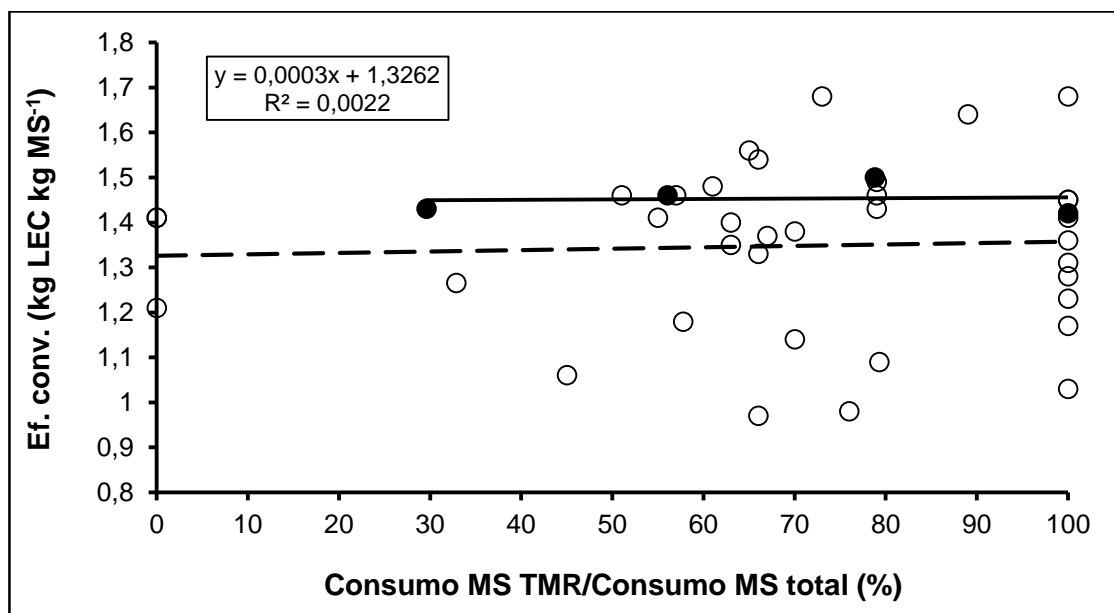


Figura 21: Consumo de MS en vacas lecheras alimentadas con distintas proporciones de pastura y TMR. Línea discontinua y círculos claros (a partir de Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002a; Kolver *et al.*, 2002; Fontanelli *et al.*, 2005; Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010; O'Neill *et al.*, 2011; Auldust *et al.*, 2014; Fajardo *et al.*, 2015; Quilaguy, 2015) y línea continua con círculos negros (datos de este estudio).

El consumo de EN_L se incrementó significativamente con el nivel de inclusión de TMR en la dieta (Cuadro 21) debido al aumento en el consumo de MS total y en el consumo de EN_L proveniente de la TMR (+9,4, +18,8 y +29,0 Mcal d⁻¹ para T2, T1 y T0, respectivamente) ya que el consumo de EN_L a partir de la pastura disminuyó con niveles crecientes de TMR (-6,6, -13,0 y -19,8 Mcal d⁻¹ para para T2, T1 y T0, respectivamente) como consecuencia de los tratamientos pre-planeados.

La eficiencia de conversión resultó similar entre tratamientos (Cuadro 21). Puesto que en T3 las vacas aparentemente movilizaron reservas corporales para sostener la producción de leche (Cuadro 22), las diferencias reales en la eficiencia de conversión podrían en parte estar enmascaradas. Mediante el análisis practicado utilizando datos de la bibliografía no se detectó ninguna relación entre el nivel de consumo de TMR y la EC

(Figura 22). El modelo de regresión entre estas dos variables resultó no significativo ($P = 0,62$).



3.4.4. Peso vivo, condición corporal y concentración plasmática de metabolitos y hormonas.

El consumo creciente de TMR incrementó el PV y la CC (Cuadro 22) de las vacas, resultado compatible con el mayor consumo estimado de EN_L (Cuadro 21) y con la reducción de los niveles circulantes de AGNE (Cuadro 22). Estos resultados sugieren que los animales no utilizaron toda la energía adicional consumida para aumentar la producción de leche, sino que una parte fue derivada a la reconstitución de reservas corporales. Por otro lado, como ya fue comentado, la pérdida de PV registrada en las vacas del grupo T3 (-18,9 kg), estaría indicando que parte de la producción de leche se obtuvo a expensas de movilización de energía endógena como lo han sugerido Fontaneli *et al.* (2005).

Diversos autores informaron un efecto negativo del consumo creciente de pastura sobre el balance energético de vacas lecheras de alta producción, relacionado con las limitaciones en el consumo de MS lo que genera pérdidas de peso vivo y de condición corporal (Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Tucker, Rude y Wittayakun, 2001; Bargo *et al.* 2002a; Washburn *et al.*, 2002; Fontaneli *et al.*, 2005). Las vacas alimentadas en confinamiento con TMR suelen mantener su peso y condición corporal (Kolver y Muller, 1998; Bargo *et al.*, 2002a) o bien experimentan mejoras en estos parámetros (Tucker *et al.*, 2001) mientras que las vacas de alto mérito genético que consumen sólo pastura movilizan sus reservas corporales con importantes pérdidas de estado corporal (Kolver y Muller, 1998; Tucker *et al.*, 2001).

La interacción tratamiento x muestreo resultó significativa ($P < 0,01$) para AGNE y urea plasmáticos (Cuadro 22). Los niveles circulantes de AGNE disminuyeron con el tiempo en todos los tratamientos, aunque con una pendiente levemente mayor en T2 y T3 con respecto a T0 y T1. La concentración plasmática de urea resultó menor en los dos tratamientos con mayor proporción de pastura (T2 y T3), siendo esta diferencia más marcada al final del ensayo en relación al inicio del mismo. Este resultado podría explicarse en parte por una reducida capacidad del hígado para sintetizar urea en los grupos de vacas con mayor lipomovilización, ya que una mayor acumulación de grasa en el hígado puede conducir a una menor función hepática (Duffield, Rabiee y Lean, 2008). Strang *et al.* (1998) reportaron que la tasa de ureogénesis (*in vitro*) disminuyó linealmente ante una prolongada exposición previa de los hepatocitos a los triglicéridos.

Cuadro 22: Peso vivo (PV), condición corporal (CC) y concentración plasmática de metabolitos y hormonas en vacas lecheras alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura.

| Variable | Tratamientos ¹ | | | | EEM | Efectos, ² | | P < |
|-----------------------------------|---------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------|-----------------------|------|------|
| | T0 | T1 | T2 | T3 | | Trat | M | |
| PV promedio (kg) | 606,2 ^a | 583,4 ^b | 560,8 ^c | 543,5 ^d | 4,73 | 0,01 | 0,01 | 0,79 |
| PV inicial (kg) | 544,8 ^a | 549,1 ^a | 555,5 ^a | 578,1 ^a | 23,1 | 0,72 | ... | ... |
| PV final (kg) | 606,0 ^a | 583,9 ^a | 562,6 ^a | 559,2 ^a | 22,8 | 0,34 | ... | ... |
| Δ PV ³ (kg) | 61,2 ^a | 34,8 ^b | 7,1 ^c | -18,9 ^d | 9,71 | 0,01 | ... | ... |
| CC promedio (1 a 5) | 2,45 ^a | 2,42 ^a | 2,21 ^b | 2,00 ^c | 0,06 | 0,01 | 0,16 | 0,63 |
| Glucosa (mmol L ⁻¹) | 3,57 | 3,40 | 3,53 | 3,40 | 0,07 | 0,13 | 0,01 | 0,60 |
| Urea (mmol L ⁻¹) | 7,40 ^a | 7,16 ^a | 6,46 ^b | 6,17 ^b | 0,19 | 0,01 | 0,01 | 0,01 |
| AGNE (μ Eq L ⁻¹) | 2,23 ^b | 2,23 ^b | 2,30 ^b | 2,44 ^a | 0,04 | 0,01 | 0,01 | 0,01 |
| | (180,6) | (181,5) | (239,4) | (333,3) | | | | |
| GH (ng ml ⁻¹) | 0,06 ^b | 0,13 ^b | 0,20 ^{ab} | 0,48 ^a | 0,11 | 0,02 | 0,01 | 0,46 |
| | (1,76) | (2,41) | (2,56) | (4,36) | | | | |
| Insulina (ng ml ⁻¹) | 0,59 | 0,47 | 0,54 | 0,48 | 0,06 | 0,39 | 0,09 | 0,52 |
| IGF-I (ng ml ⁻¹) | 184,2 | 157,9 | 161,6 | 139,4 | 16,9 | 0,30 | 0,04 | 0,53 |

¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Trat = tratamiento, M = muestreo, Trat x M = tratamiento x muestreo. ³ Δ PV = variación de PV = PV final – PV inicial. ^{a,b,c,d}LSMeans dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (Tukey-Kramer, $P < 0,05$). AGNE = ácidos grasos no esterificados = log₁₀ AGNE; GH = somatotropina = log₁₀ GH; IGF-I = somatomedina C. Entre paréntesis, medias sin transformar de AGNE y GH.

Según Radostits *et al.* (2006) las concentraciones de urea plasmática serían de escasa relevancia metabólica ya que en ganado bovino el rango de uremia considerado como normal es muy amplio y oscila entre 37 a 169 mg dl⁻¹. Los valores de urea plasmática registrados en el presente ensayo se ubicaron en el límite inferior de dicho rango (44,4, 43,0, 38,8 y 37,1 mg dl⁻¹, para T0, T1, T2 y T3, respectivamente).

Los metabolitos plasmáticos como los AGNE y la glucosa y las hormonas reguladoras como la insulina, la GH y el IGF-I actúan como indicadores dinámicos o a corto plazo del balance energético (Cissé *et al.*, 1991; Chilliard, Bocquier y Doreau, 1998). El balance energético negativo genera una disminución en la concentración de glucosa, insulina e IGF-I y un aumento en los niveles circulantes de AGNE y GH (Grummer, 1995; Van Knegsel *et al.*, 2007). Astessiano *et al.* (2015) evaluaron los perfiles metabólicos y endócrinos de vacas

Holstein en lactancia temprana alimentadas con TMR *ad libitum* (sin acceso a pastura, G0) o con dietas combinando TMR (50% del consumo MS *ad libitum*) y pastura con diferentes estrategias de pastoreo, 6 y 9 horas día⁻¹ en una (G1) o dos (G2) sesiones de pastoreo, respectivamente, e informaron que la concentración plasmática de β -hidroxibutirato resultó mayor en las vacas del grupo G0 con respecto a G1 y G2, mientras que los niveles circulantes de insulina fueron mayores y los de IGF-I tendieron a ser mayores en las vacas del grupo G0 con respecto a G2. Estos resultados fueron consistentes con los menores requerimientos de EN mantenimiento y el mayor balance de EN lactancia estimado en las vacas del grupo G0.

En el presente ensayo, a pesar del consumo diferencial de EN_L (Cuadro 21), las concentraciones plasmáticas de glucosa resultaron similares entre tratamientos (Cuadro 22) con valores situados dentro de los rangos de referencia (2,5 a 4,16 mmol L⁻¹). El resultado es consistente con la existencia de un potente mecanismo de control homeostático-hormonal de la glucemia en los bovinos (Noro *et al.*, 2006). En este contexto, la insulina podría ser un mejor indicador del estatus nutricional ya que esta hormona cumple un papel importante en el metabolismo de la glucosa (Hess *et al.*, 2005). La ausencia de efectos sobre la concentración plasmática de insulina (Cuadro 22) resultó coherente con los similares tenores plasmáticos de glucosa registrados entre tratamientos.

El consumo creciente de pastura de avena generó una reducción numérica (25%) en la concentración plasmática de IGF-I e incrementó los niveles circulantes de GH (Cuadro 22), resultado compatible con la disminución en el consumo de EN_L (Cuadro 21) y con el aumento en los valores circulantes de AGNE (Cuadro 22). Coincidentemente, McGuire *et al.* (1995) informaron que vacas en lactancia media sometidas a una restricción alimenticia duplicaron la concentración plasmática de GH y redujeron los niveles circulantes de IGF-I en aproximadamente un 50%. La disminución del número de receptores de GH en el tejido hepático durante periodos de balance energético negativo (Breier, Gluckman y Bass, 1988) contribuiría a explicar el aumento de la concentración plasmática de GH y la reducción de la producción hepática de IGF-I observados.

3.4.5. Ambiente y digestión ruminal.

La interacción tratamiento x hora resultó no significativa para la mayoría de las variables de ambiente ruminal estudiadas, excepto para concentración de N-NH₃ (Cuadro 23).

Cuadro 23: Ambiente ruminal en vacas fistuladas alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura.

| Variable | Tratamientos ¹ | | | | EEM | Efectos, ² P < | | |
|--|---------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|------|---------------------------|------|-------------|
| | T0 | T1 | T2 | T3 | | Trat | Hora | Trat x Hora |
| AGVt (mmol L ⁻¹) | 140,8 | 154,8 | 169,9 | 151,9 | 8,84 | 0,24 | 0,01 | 0,07 |
| Ac (mmol L ⁻¹) | 70,5 | 82,6 | 88,6 | 79,9 | 5,90 | 0,28 | 0,08 | 0,40 |
| Ac (mol 100 mol ⁻¹) | 53,8 ^b | 57,0 ^a | 56,8 ^a | 58,2 ^a | 0,53 | 0,01 | 0,01 | 0,98 |
| Pr (mmol L ⁻¹) | 32,9 | 33,2 | 35,3 | 29,6 | 1,6 | 0,21 | 0,01 | 0,13 |
| Pr (mol 100 mol ⁻¹) | 24,8 ^a | 22,7 ^b | 22,6 ^b | 21,7 ^b | 0,34 | 0,01 | 0,01 | 0,95 |
| Butirato (mmol L ⁻¹) | 18,5 | 19,4 | 22,4 | 17,3 | 1,06 | 0,06 | 0,02 | 0,53 |
| Butirato (mol 100 mol ⁻¹) | 14,2 ^a | 13,5 ^{ab} | 14,4 ^a | 13,1 ^b | 0,36 | 0,04 | 0,01 | 0,65 |
| Relación Ac:Pr | 2,22 | 2,53 | 2,51 | 2,70 | 0,12 | 0,14 | 0,04 | 0,53 |
| pH | 6,00 | 5,79 | 5,91 | 5,95 | 0,09 | 0,42 | 0,01 | 0,08 |
| N_NH ₃ (mg dl ⁻¹) | 18,81 | 19,59 | 23,52 | 25,08 | 2,76 | 0,38 | 0,01 | 0,01 |

¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Trat = tratamiento, Trat x Hora = interacción tratamiento x hora. ^{a,b}LSMeans dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (test Tukey-Kramer, $P < 0,05$). AGVt = ácidos grasos volátiles totales; Ac = acetato; Pr = propionato; Relación Ac:Pr = relación acetato:propionato.

Similares valores de pH ruminal fueron reportadas por Bargo, Muller, Varga *et al.* (2002) en vacas alimentadas con TMR sin acceso a pastura respecto a tratamientos con 70% TMR más pastura lo que equivale a una situación intermedia a T1 y T2 del presente estudio y pastura (60%) más concentrado (40%). Coincidentemente, en el presente trabajo el pH ruminal resultó similar entre tratamientos con un valor promedio de 5,91 (Cuadro 23), muy cercano al informado por Bargo, Muller, Varga *et al.* (2002).

Es conocida la influencia que los patrones diarios de consumo tienen sobre las oscilaciones de los parámetros de fermentación ruminal (pH, amonio y AGV) (Van Vuuren, Van der Koelen y Vroons-de Bruin, 1986; Bargo *et al.*, 2001). En el presente estudio, el efecto hora resultó significativo reflejando la variación de estas variables durante el período de muestreo. Los valores de pH mínimos fueron 5,77 a la hora 16 (22:00 h) para T0, 5,79 a la hora 8 (14:00 h) para T3, mientras que para T1 y T2 se registraron a la hora 12 (18:00 h) y fueron 5,51 y 5,73, respectivamente (Figura 23).

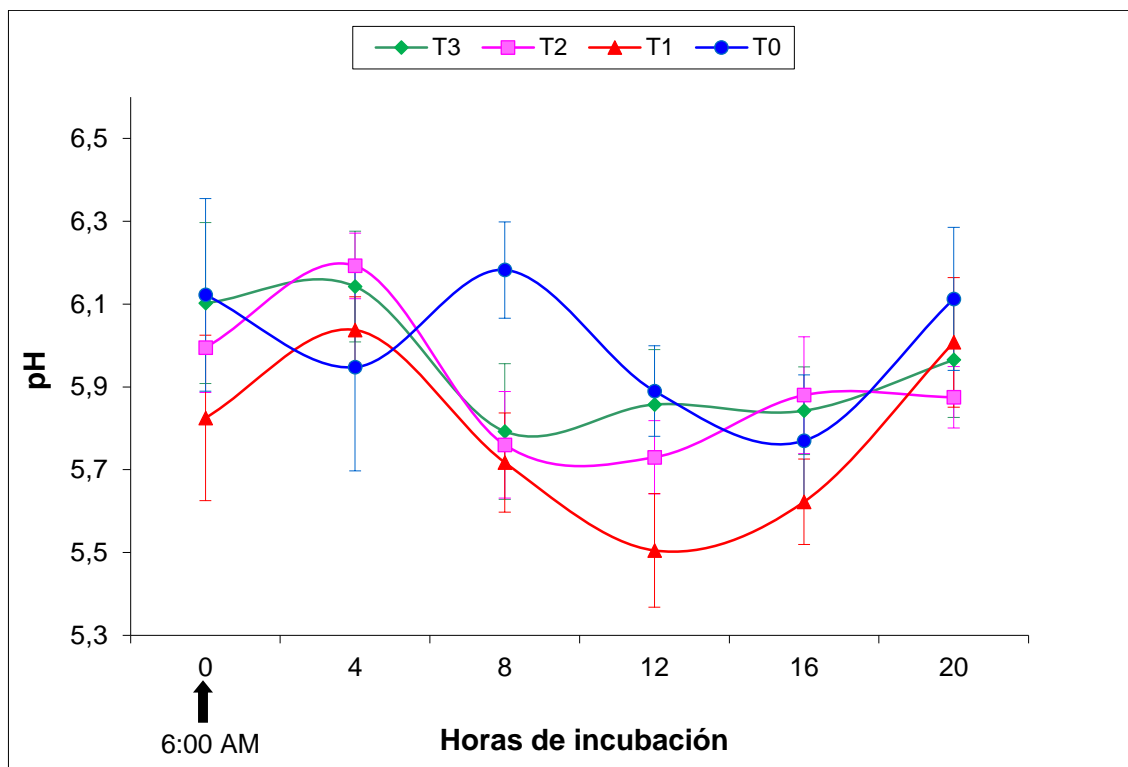


Figura 23: Evolución del pH ruminal en vacas fistuladas alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura.

Los valores de pH máximos para los grupos que consumieron PMR se registraron a la hora 4 (10:00 h) y fueron 6,04, 6,19 y 6,14 para T1, T2 y T3, respectivamente, mientras que para el grupo de vacas control (T0) el pH máximo fue 6,18 y se registró a la hora 8 (14:00 h).

La interacción tratamiento x hora de muestreo para la concentración ruminal de N-NH₃ demostró que el parámetro resultó significativamente mayor en los dos tratamientos con mayor proporción de pastura (T2 y T3) con respecto a aquéllos con menor proporción de pastura (T0 y T1) a las 8 y 12 horas de incubación. A la hora 16 dicho parámetro resultó significativamente mayor en los 3 tratamientos que incluyeron pastura en la dieta (T1, T2 y T3) con respecto al tratamiento control sin pastura (T0). En la Figura 24 se presenta la evolución de la concentración de N-NH₃ en rumen durante el período de muestreo.

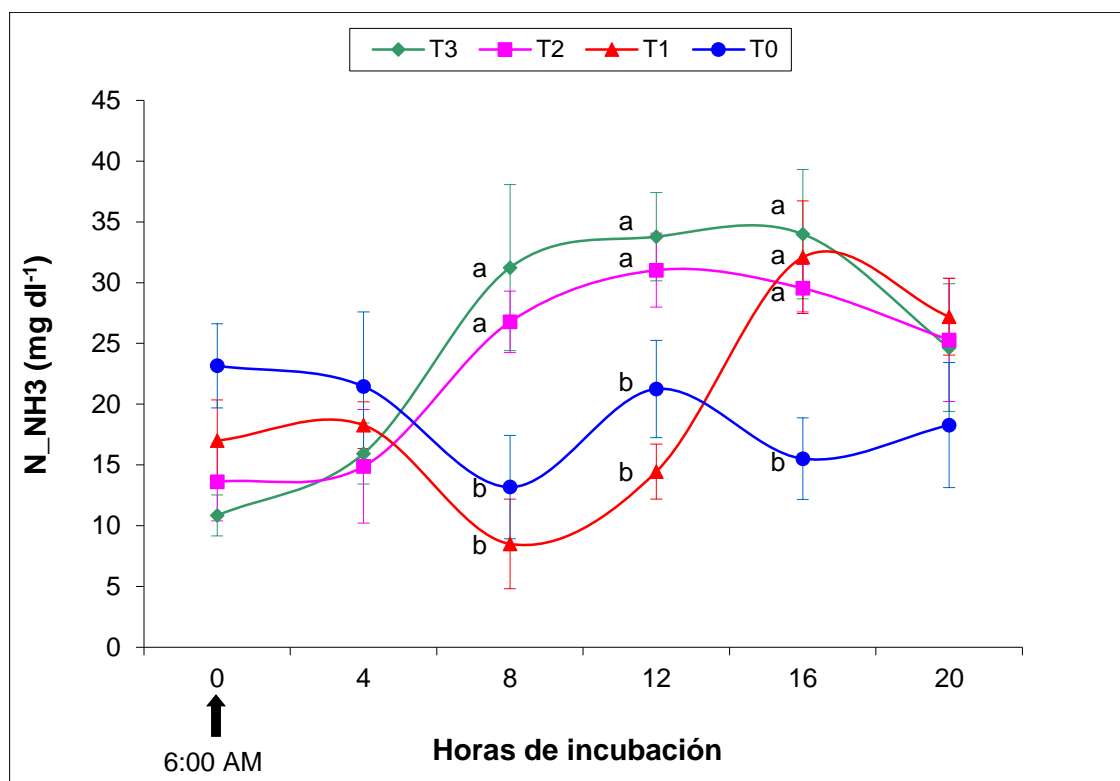


Figura 24: Evolución del N-NH₃ ruminal en vacas fistuladas alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura.

El incremento en la concentración de N-NH₃ en los grupos de vacas consumiendo PMR (T1, T2 y T3) ocurrió luego del ingreso a la pastura, lo que se explica por la alta degradabilidad ruminal de la proteína del forraje fresco. El efecto hora de muestreo resultó también significativo. El tratamiento control resultó más estable en cuanto a las fluctuaciones diarias en los valores de N-NH₃ en rumen comparado con los tratamientos que incluyeron pastura. En efecto, el rango de variación observado en T0 fue desde 13,2 hasta 23,2 mg dl⁻¹, mientras que dicho rango osciló entre 8,5 y 32,1, 13,6 y 31,0 y 10,8 y 34,0 mg dl⁻¹ en T1, T2 y T3, respectivamente (Figura 24).

En el presente trabajo, la concentración total de AGV no difirió entre tratamientos (Cuadro 23) resultado consistente con los similares valores de pH ruminal observados y con lo informado por Bargo, Muller, Varga *et al.* (2002). La concentración total de AGV promedió 154,4 mmol L⁻¹ (Cuadro 23) y resultó mayor a la informada por Bargo, Muller, Varga *et al.* (2002) (137,5 mmol L⁻¹) pero similar a la reportada por Krause, Combs y Beauchemin (2002) para vacas lecheras alimentadas con raciones mezcladas combinando dos tamaños de picado del forraje y dos concentrados con diferente contenido de almidón

degradable en rumen (151,5 mmol L⁻¹). Las concentraciones de acetato, propionato y butirato y la relación acetato:propionato no fueron afectadas por los tratamientos (Cuadro 23), resultado compatible con los similares tenores de GB observados (Cuadro 20).

En general, la suplementación con concentrados a base de granos de cereales ricos en almidón modifica el perfil ruminal de AGV al aumentar la producción de propionato con disminución del acetato alterando así la relación entre ambos (García, Santini y Elizalde, 2000; Bargo *et al.*, 2002b; Sayers, Mayne y Bartram, 2003; Wales y Doyle, 2003; Leddin *et al.*, 2010). Estos cambios son esperados, ya que el propionato es el principal producto final de la fermentación del almidón. En el presente experimento, la proporción molar de acetato resultó significativamente menor y la de propionato significativamente mayor en el grupo de vacas control (T0) con respecto a los grupos que consumieron PMR (T1, T2 y T3), resultado compatible con el mayor consumo de carbohidratos no estructurales observado en T0 con respecto a los demás tratamientos (9,3 vs. 6,7 kg día⁻¹, $P < 0,01$).

Los parámetros de degradabilidad ruminal de la MS y de la PC de la pastura se presentan en el Cuadro 24.

Cuadro 24: Cinética de desaparición ruminal de la MS y de la pared celular (PC) de la avena en vacas fistuladas alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura.

| Parámetro | Tratamientos ¹ | | | | EEM | $P <^2$ |
|--------------------------------------|---------------------------|-------|-------|-------|------|---------|
| | T0 | T1 | T2 | T3 | | |
| MS | | | | | | |
| FS (%) | 30,80 | 28,28 | 31,31 | 28,11 | 1,90 | 0,55 |
| FI (%) | 57,78 | 59,66 | 56,96 | 57,24 | 1,39 | 0,56 |
| kd (% hora ⁻¹) | 4,51 | 5,69 | 5,40 | 6,17 | 0,97 | 0,69 |
| FPD (%) | 88,58 | 87,94 | 88,26 | 85,35 | 1,67 | 0,54 |
| Degradabilidad efectiva ³ | | | | | | |
| kp = 5 % hora ⁻¹ | 58,17 | 58,19 | 59,42 | 59,74 | 1,16 | 0,85 |
| PC | | | | | | |
| FPDPC (%) | 85,18 | 81,44 | 87,99 | 80,03 | 3,27 | 0,38 |
| TFDPC (% hora ⁻¹) | 5,16 | 6,61 | 5,59 | 6,41 | 0,95 | 0,69 |
| TRIDPC (horas) | 0,90 | 0,84 | 0,00 | 0,67 | 0,67 | 0,77 |
| Degradabilidad efectiva ³ | | | | | | |
| kp = 5 % hora ⁻¹ | 40,61 | 41,17 | 40,59 | 39,95 | 1,81 | 0,97 |

¹Valores expresados a través de las LSMeans y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Efecto tratamiento. ³Asumiendo una tasa de pasaje (kp) de 5 % hora⁻¹ (Van Vuuren *et al.*, 1992). FS = Fracción soluble; FI = Fracción insoluble; kd = Tasa de digestión; FPD = Fracción potencialmente degradable (FS + FI); FPDPC = Fracción potencialmente digestible de la PC; TFDPC = Tasa fraccional de digestión de la PC; TRIDPC = Tiempo de retardo en el inicio de la digestión de la PC.

Según Bargo, Muller, Varga *et al.* (2002), la combinación de pastoreo y TMR podría inducir efectos asociativos negativos en el rumen capaces de reducir la digestión de la FDN de la pastura (Dixon y Stockdale, 1999) como consecuencia de una alta participación de concentrados en la formulación de las TMR. En el presente estudio, los tratamientos no afectaron ninguno de los parámetros asociados a la desaparición *in situ* de la MS y de la PC de la pastura ni la degradabilidad efectiva de la MS y PC del forraje (Cuadro 24), resultado compatible con los similares valores de pH ruminal observados (Cuadro 23). Estos resultados sugieren la ausencia de efectos asociativos negativos a nivel ruminal en los animales experimentales. Bargo, Muller, Varga *et al.* (2002) informaron que una combinación de 70% TMR y 30% pastura resultó en efectos asociativos negativos en rumen al reducir la fracción potencialmente degradable total de la MS y FDN de la pastura con respecto al tratamiento pastura (60%) más concentrado (40%). En dicho estudio, si bien el pH ruminal promedio resultó similar entre tratamientos, se detectó interacción tratamiento x hora indicando que los patrones de variación diaria del pH ruminal difirieron entre tratamientos. El tratamiento PMR fue el que presentó las mayores fluctuaciones diarias en los valores de pH ruminal (rango de variación: 5,48 a 6,46), contribuyendo a explicar la menor degradabilidad ruminal de la pastura observada en este tratamiento. Contrariamente a lo informado por Bargo, Muller, Varga *et al.* (2002), en el presente ensayo no se detectó interacción tratamiento x hora para pH ruminal (Cuadro 23).

La estimación de la degradabilidad efectiva asumiendo una tasa de pasaje igual para los diferentes tratamientos dietarios podría conducir a errores ya que las mismas pueden variar con el consumo. Sin embargo, en algunos estudios este efecto no fue observado. Así, Reis y Combs (2000) suplementaron vacas lecheras en pastoreo de pasturas mixtas de alfalfa-raigrás con 3 niveles (0, 5 y 10 kg MS día⁻¹) de concentrado a base de maíz e informaron que la tasa de pasaje y el tiempo de retención del forraje en rumen no resultaron afectados por el nivel de suplementación, a pesar de que el consumo MS incrementó linealmente con los niveles crecientes de concentrado.

Los valores de los parámetros asociados a la cinética de digestión ruminal de la PC de la avena (Cuadro 24) resultaron cercanos a los rangos informados por Bargo *et al.* (2001) para vacas lecheras pastoreando avena y suplementadas (6,5 kg día⁻¹) con 3 concentrados conteniendo distintos niveles y fuentes de proteína: 80,70-82,46%, 4,88-5,31% hora⁻¹ y 0,00-0,61 horas, para FPDPC, TFDPC y TRIDPC, respectivamente. A su vez, los valores de degradabilidad efectiva de la FDN de la avena promediaron 40,6% (Cuadro 24) y resultaron levemente inferiores a los reportados por Elizalde, Rearte y Santini (1992) para vacas fistuladas pastoreando avena sin suplementación o suplementadas con 5 kg MS día⁻¹ de ensilaje de maíz (en promedio 45,0%). Esta diferencia podría atribuirse a las diferentes *k_p* utilizadas para el cálculo de la degradabilidad efectiva, 4% hora⁻¹ (Elizalde *et al.*, 1992) y 5% hora⁻¹ en el presente ensayo. Los parámetros asociados a la degradabilidad ruminal de la MS y de la PC del ensilaje de maíz (principal componente de la TMR) tampoco resultaron afectados por los tratamientos (Cuadro 25).

Cuadro 25: Cinética de desaparición ruminal de la MS y de la pared celular (PC) del ensilaje de maíz en vacas fistuladas alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura.

| Variable | Tratamientos ¹ | | | | EEM | P < ² |
|---|---------------------------|-------|-------|-------|-------|------------------|
| | T0 | T1 | T2 | T3 | | |
| MS | | | | | | |
| FS (%) | 22,94 | 22,50 | 24,40 | 29,83 | 2,25 | 0,18 |
| FI (%) | 55,31 | 56,16 | 51,67 | 57,05 | 10,82 | 0,98 |
| kd (% hora ⁻¹) | 4,32 | 2,45 | 2,84 | 1,81 | 1,50 | 0,70 |
| FPD (%) | 78,25 | 78,65 | 76,07 | 86,87 | 12,71 | 0,93 |
| Degradabilidad efectiva ³ | | | | | | |
| <i>k_p</i> = 5 % hora ⁻¹ | 39,86 | 39,38 | 39,68 | 43,16 | 1,11 | 0,15 |
| PC | | | | | | |
| FPDPC (%) | 68,65 | 70,56 | 74,83 | 55,76 | 12,56 | 0,74 |
| TFDPC (% hora ⁻¹) | 2,62 | 1,81 | 1,65 | 4,08 | 0,88 | 0,28 |
| TRIDPC (horas) | 0,90 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,45 | 0,45 |
| Degradabilidad efectiva ³ | | | | | | |
| <i>k_p</i> = 5 % hora ⁻¹ | 19,37 | 17,89 | 17,98 | 19,64 | 1,13 | 0,61 |

¹Valores expresados a través de las LSMeans y el error estándar de las LSMeans (EEM).

²Efecto tratamiento. ³Asumiendo una tasa de pasaje (*k_p*) de 5 % hora⁻¹ (Van Vuuren *et al.*, 1992). FS = Fracción soluble; FI = Fracción insoluble; kd = Tasa de digestión; FPD = Fracción potencialmente degradable (FS + FI); FPDPC = Fracción potencialmente

digestible de la PC; TFDPC = Tasa fraccional de digestión de la PC; TRIDPC = Tiempo de retardo en el inicio de la digestión de la PC.

Estos resultados coinciden con los reportados por Quilaguy (2015) en un ensayo comparable. El autor concluyó que el tamaño de picado del ensilaje de maíz utilizado para confeccionar la TMR resultó compatible con un correcto aporte de fibra efectiva en los diferentes tratamientos, lo que explicaría la ausencia de diferencias significativas en los parámetros de degradabilidad ruminal de la MS y la FDN del ensilaje.

En el presente estudio, el contenido de fibra físicamente efectiva ($peNDF_{>8}$) promedio de la TMR (20,1) se ubicó por encima del valor mínimo requerido (18,5%) para prevenir el desarrollo de acidosis ruminal subaguda (Zebeli *et al.*, 2012), lo cual contribuiría a explicar la ausencia de efectos asociativos negativos sobre la digestión ruminal del forraje. El consumo de fibra efectiva presente en la TMR permitiría incrementar la masticación y salivación elevando la capacidad buffer del rumen mientras la fracción de carbohidratos no estructurales es fermentada.

Los valores de FS, kd y degradabilidad efectiva de la MS del ensilaje de maíz promediaron 24,92%, 2,86% hora⁻¹ y 40,52%, respectivamente (Cuadro 25) y resultaron inferiores a los reportados por Quilaguy (2015) (34,43%, 4,13% hora⁻¹ y 52,15% para valores promedio de FS, kd y degradabilidad efectiva de la MS, respectivamente). Las diferencias entre Quilaguy (2015) y el presente trabajo están probablemente relacionadas al procesamiento de las muestras incubadas: forraje seco y molido vs. forraje húmedo y procesado en un mortero, respectivamente.

A su vez, los valores de degradabilidad efectiva de la FDN del ensilaje de maíz promediaron 18,72% (Cuadro 25) y resultaron inferiores a los informados por Quilaguy (2015) (en promedio 30,10%) pero más cercanos a los reportados por Elizalde *et al.* (1992) (en promedio 25,30%) quienes procesaron las muestras de ensilaje incubadas con el mismo procedimiento utilizado en este estudio. La diferencia entre estudios podría explicarse en parte por las diferentes kp utilizadas para el cálculo de la degradabilidad efectiva, 4% hora⁻¹ (Elizalde *et al.*, 1992) y 5% hora⁻¹ en el presente ensayo.

3.4.6. Valor saludable de la leche.

La composición en AG de la leche es un factor determinante de su calidad nutricional ya que algunos de ellos presentan efectos potencialmente benéficos sobre la salud humana y

otros no (Gagliostro, 2004). En el Cuadro 26 se presentan los resultados del perfil de AG de la leche.

La concentración de los AG C_{12:0}, C_{14:0} y C_{16:0}, juzgados como pro-aterogénicos (Ulbricht y Southgate, 1991), resultó menor en vacas consumiendo pastura (60%) más concentrado (40%) con respecto a vacas consumiendo TMR (70%) más pastura (30%) y TMR *ad libitum* sin acceso a pastura (Bargo *et al.*, 2006). En línea con estos autores, Vibart *et al.* (2008) y Morales-Almaráz *et al.* (2010) informaron que el reemplazo de TMR por niveles crecientes de pastura redujo la concentración de C_{16:0} en leche. En este estudio, las concentraciones de C_{12:0} y C_{14:0} resultaron levemente mayores en T2, sin efecto sobre la concentración de C_{16:0} (Cuadro 26).

Cuadro 26: Concentración de ácidos grasos (AG) en la leche de vacas lecheras alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura.

| Ácidos grasos (g 100 g AG ⁻¹) | Tratamientos ¹ | | | | EEM | Efectos, ² P < | | |
|--|---------------------------|--------------------|--------------------|---------------------|-------|---------------------------|------|----------|
| | T0 | T1 | T2 | T3 | | Trat | M | Trat x M |
| C _{4:0} | 3,21 | 3,17 | 2,64 | 2,72 | 0,31 | 0,45 | 0,66 | 0,07 |
| C _{6:0} | 2,07 | 2,21 | 2,06 | 1,96 | 0,14 | 0,66 | 0,63 | 0,50 |
| C _{8:0} | 1,26 | 1,32 | 1,34 | 1,21 | 0,05 | 0,39 | 0,68 | 0,95 |
| C _{10:0} | 2,80 ^{ab} | 2,89 ^{ab} | 3,06 ^a | 2,63 ^b | 0,10 | 0,04 | 0,57 | 0,88 |
| C _{10:1} | 0,25 ^c | 0,27 ^{bc} | 0,32 ^a | 0,30 ^{ab} | 0,02 | 0,01 | 0,63 | 0,99 |
| C _{12:0} | 3,23 ^b | 3,25 ^{ab} | 3,58 ^a | 3,06 ^b | 0,13 | 0,03 | 0,61 | 0,39 |
| C _{12:1} | 0,08 ^c | 0,09 ^c | 0,11 ^b | 0,12 ^a | 0,003 | 0,01 | 0,01 | 0,06 |
| C _{14:0} | 10,12 ^b | 10,40 ^b | 11,61 ^a | 10,58 ^b | 0,20 | 0,01 | 0,10 | 0,09 |
| C _{14:1} | 0,72 ^b | 0,83 ^b | 1,08 ^a | 1,20 ^a | 0,05 | 0,01 | 0,01 | 0,89 |
| C _{15:0} | 0,91 | 0,97 | 1,02 | 1,05 | 0,04 | 0,07 | 0,26 | 0,94 |
| C _{15:1} | 0,21 ^b | 0,21 ^b | 0,21 ^b | 0,35 ^a | 0,03 | 0,01 | 0,35 | 0,09 |
| C _{16:0} | 30,33 | 29,42 | 29,68 | 29,83 | 0,64 | 0,78 | 0,01 | 0,25 |
| C _{16:1} | 1,37 ^{bc} | 1,28 ^c | 1,49 ^{ab} | 1,58 ^a | 0,06 | 0,01 | 0,01 | 0,04 |
| C _{17:0} | 0,39 ^b | 0,43 ^{ab} | 0,50 ^a | 0,47 ^{ab} | 0,03 | 0,05 | 0,01 | 0,15 |
| C _{17:1} | 0,14 ^c | 0,19 ^b | 0,19 ^b | 0,23 ^a | 0,01 | 0,01 | 0,06 | 0,01 |
| C _{18:0} | 13,23 ^{ab} | 14,18 ^a | 11,16 ^c | 12,35 ^{bc} | 0,57 | 0,01 | 0,06 | 0,15 |
| 9-trans C _{18:1} | 0,06 | 0,06 | 0,05 | 0,05 | 0,03 | 0,96 | 0,21 | 0,18 |
| 10-trans C _{18:1} | 0,24 | 0,21 | 0,09 | 0,15 | 0,06 | 0,39 | 0,06 | 0,76 |
| 11-trans C _{18:1} (AV) | 2,68 ^b | 3,16 ^a | 3,23 ^a | 3,15 ^a | 0,10 | 0,01 | 0,01 | 0,36 |

| | | | | | | | | |
|----------------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|------|------|------|------|
| 9-cis C _{18:1} | 20,73 ^b | 20,4 ^b | 21,25 ^b | 24,04 ^a | 0,69 | 0,01 | 0,69 | 0,56 |
| 11-cis C _{18:1} | 0,53 ^a | 0,45 ^b | 0,44 ^b | 0,43 ^b | 0,02 | 0,01 | 0,09 | 0,60 |
| 9-cis 12-cis C _{18:2} | 3,83 ^a | 3,23 ^b | 2,64 ^c | 2,10 ^d | 0,12 | 0,01 | 0,33 | 0,04 |
| 9-trans 12-cis C _{18:2} | 0,15 ^b | 0,20 ^a | 0,17 ^{ab} | 0,18 ^{ab} | 0,01 | 0,03 | 0,01 | 0,01 |
| C _{18:3} | 0,40 ^d | 0,51 ^c | 0,61 ^b | 0,68 ^a | 0,02 | 0,01 | 0,26 | 0,56 |
| CLA | | | | | | | | |
| 9-cis 11-trans (AR) | 0,72 ^d | 0,84 ^c | 1,11 ^b | 1,23 ^a | 0,04 | 0,01 | 0,11 | 0,97 |
| 10-trans 12-cis | 0,08 ^b | 0,11 ^a | 0,10 ^{ab} | 0,13 ^a | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,32 |
| 9-cis 11-cis | 0,03 | 0,03 | 0,04 | 0,05 | 0,01 | 0,11 | 0,35 | 0,52 |
| 9-trans 11-trans | 0,04 ^b | 0,06 ^b | 0,10 ^a | 0,11 ^a | 0,01 | 0,01 | 0,04 | 0,18 |
| AR/AV | 0,27 ^c | 0,27 ^c | 0,34 ^b | 0,39 ^a | 0,01 | 0,01 | 0,73 | 0,42 |
| IA ³ | 2,52 | 2,55 | 2,69 | 2,46 | 0,10 | 0,49 | 0,40 | 0,60 |
| Saturados (AGS) ⁴ | 59,44 | 60,10 | 59,66 | 58,17 | 0,72 | 0,36 | 0,25 | 0,91 |
| Insaturados (AGI) ⁵ | 29,54 | 29,22 | 29,67 | 32,19 | 0,84 | 0,10 | 0,92 | 0,63 |
| Relación AGS:AGI | 2,01 | 2,09 | 2,02 | 1,88 | 0,07 | 0,37 | 0,78 | 0,72 |

¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Trat = tratamiento, M = muestreo, Trat x M = tratamiento x muestreo. ^{a,b,c,d}LSMeans dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (test Tukey-Kramer, $P < 0,05$). ³Índice de aterogenicidad: $(C12 + 4 \cdot C14 + C16) / (\text{sumatoria de AG insaturados})$. ⁴AGS: suma de 10:0, 12:0, 14:0, 16:0 y 18:0. ⁵AGI: suma de 18:1, 18:2, CLA y 18:3. AV = ácido vaccénico; AR = ácido ruménico.

A diferencia de lo informado por estudios previos (Bargo *et al.*, 2006; Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010), la participación creciente de pastura en la dieta no redujo la proporción de AGS (generadores de colesterol) ni incrementó la de AGI (Cuadro 26) que son juzgados como más adecuados en nutrición humana (Schrezenmeir y Jagla, 2000). Tampoco afectó el IA que resultó similar entre tratamientos (Cuadro 26). La ausencia de efecto del incremento de la relación pastura:TMR sobre la concentración de AGI podría explicarse por el elevado contenido de ácido linoleico (C_{18:2}) de la fracción lipídica de los alimentos que componen la TMR (maíz, soja, algodón), que se reflejó en el perfil de AG la leche. A su vez, el C_{18:2} normalmente se biohidrogena a una tasa más lenta que el ácido linolénico (C_{18:3}), el cual es más rico en las pasturas.

Existe un interés especial sobre la concentración de los ácidos linoleicos conjugados (CLA), especialmente el isómero 9-cis 11-trans C_{18:2} o ácido ruménico (AR) ya que juega un rol importante en la regulación de los lípidos plasmáticos y funciones cardiovasculares, en la reducción de la incidencia de cáncer, así como en el bloqueo del crecimiento tumoral y

metástasis del cáncer de mamas (Parodi, 1999). Los CLA representan compuestos intermedios en la biohidrogenación ruminal del C_{18:2} a ácido esteárico (C_{18:0}). El ácido trans-11 C_{18:1} (AV) resulta un intermediario común en la biohidrogenación del C_{18:2} y del C_{18:3}. La reducción ruminal del AV a C_{18:0} resulta incompleta y conduce a una acumulación del compuesto. La síntesis endógena de AR en glándula mamaria a partir del AV derivado del rumen por efecto de la enzima delta-9 desaturasa, sería la principal vía de acumulación de AR en leche bovina explicando aproximadamente un 70% de la síntesis del compuesto (Bauman y Griinari, 2001).

En este estudio, la concentración de AR aumentó significativamente con el incremento de la relación pastura:TMR (Cuadro 26). En T3, la concentración de AR resultó 10,8%, 46,4% y 70,8% superior con respecto a T2, T1 y T0, respectivamente. Este resultado es consistente con lo informado por otros autores (Loor *et al.*, 2003; Bargo *et al.*, 2006; Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010). El alto contenido de C_{18:3} en pasturas en estado vegetativo, conjuntamente con su bajo contenido de fibra, pueden interactuar para incrementar la producción de AR o de su precursor el AV (Chilliard *et al.*, 2000). Bargo *et al.* (2006) informaron que el contenido de AR en leche se incrementó linealmente con el consumo de C_{18:3}, sugiriendo que el mayor contenido de AR observado con la inclusión creciente de pastura en la dieta puede ser en parte el resultado de una incrementada producción de AV en rumen y su posterior desaturación en glándula mamaria, o que el AR puede ser efectivamente un intermediario en la biohidrogenación del C_{18:3}, como fue sugerido por Kay *et al.* (2005).

El AV puede ser metabolizado por los seres humanos a CLA bioactivo y puede tener también propiedades anticancerígenas (Stanton *et al.*, 2003). En el presente ensayo, la concentración de AV en leche resultó significativamente menor en el tratamiento control sin acceso a pastura (T0) con respecto a los tratamientos que incluyeron pastura en la dieta (T1, T2 y T3), sin diferencias significativas entre estos (Cuadro 26). La ausencia de efecto del consumo creciente de pastura sobre la concentración de AV en los grupos de vacas consumiendo PMR podría explicarse por un aumento en la actividad de la enzima delta-9 desaturasa llevando a que el AV sea más eficazmente absorbido y desaturado en el tejido mamario para producir AR, ya que la relación AR/AV (indicador de la actividad delta-9 desaturasa) aumentó significativamente con el incremento de la relación pastura:TMR (Cuadro 26).

En línea con lo informado por estudios previos (Vibart *et al.*, 2008; Morales- Almaráz *et al.*, 2010), la concentración de C_{18:3} en leche aumentó significativamente con consumos crecientes de pastura (Cuadro 26), resultado que podría explicarse por el elevado contenido de este AG en las pasturas de alta calidad (Elgersma y Wever, 2005).

Por otro lado, la concentración de ácido linoleico (9-cis 12-cis C_{18:2}) incrementó significativamente con la participación creciente de TMR (Cuadro 26), efecto informado también por otros autores (Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010). Este resultado podría explicarse por un mayor consumo de C_{18:2} en los tratamientos con mayor proporción de TMR.

Los contrastes revelaron incrementos lineales ($P < 0,01$) para los contenidos de AR y C_{18:3} y la relación AR/AV ante consumos crecientes de pastura en reemplazo de TMR, resultados similares a los reportados por Vibart *et al.* (2008).

En síntesis, si bien el IA de la leche no resultó disminuido por la participación creciente de pastura, la mayor concentración de AR y C_{18:3} resultan compatibles con un menor riesgo cardiovascular asociado al consumo de grasa butirosa.

En el Cuadro 27 se presentan los resultados del contenido de vitaminas liposolubles de la leche.

Cuadro 27: Concentración de vitaminas en la grasa butirosa (GB) de vacas lecheras alimentadas con TMR sin acceso a pastura (T0) o con 79% (T1), 56% (T2) y 30% (T3) de TMR y pastura.

| Vitaminas (µg g GB ⁻¹) | Tratamientos ¹ | | | | EEM | Efectos, ² P < | | |
|---------------------------------------|---------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------|---------------------------|------|----------|
| | T0 | T1 | T2 | T3 | | Trat | M | Trat x M |
| Retinol | 2,98 ^c | 6,60 ^b | 6,45 ^b | 8,16 ^a | 0,37 | 0,01 | 0,01 | 0,79 |
| β-caroteno | 0,85 ^c | 5,05 ^b | 6,41 ^a | 6,78 ^a | 0,37 | 0,01 | 0,01 | 0,23 |
| Luteína | 0,10 ^c | 0,31 ^b | 0,46 ^a | 0,36 ^b | 0,03 | 0,01 | 0,74 | 0,98 |
| α-tocoferol | 18,21 ^b | 18,53 ^b | 21,53 ^a | 23,24 ^a | 0,90 | 0,01 | 0,01 | 0,50 |
| γ-tocoferol | 4,60 ^a | 2,38 ^b | 1,78 ^c | 1,09 ^d | 0,18 | 0,01 | 0,27 | 0,21 |

¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Trat = tratamiento, M = muestreo, Trat x M = tratamiento x muestreo. ^{a,b,c,d}LSMeans dentro de fila con distinta letra difieren significativamente (test Tukey-Kramer, $P < 0,05$).

Hay un creciente interés en estrategias de alimentación que permitan incrementar el contenido de determinados micronutrientes liposolubles en leche considerados como

compuestos nutracéuticos debido a sus efectos benéficos sobre la salud humana (Calderón *et al.*, 2007). Entre estos compuestos, la vitamina E (α -tocoferol), los carotenoides precursores de vitamina A (β -caroteno y luteína) y la vitamina A (retinol) son importantes para la nutrición y salud humana como antioxidantes naturales. Además, los carotenoides le confieren un color amarillo a la leche y productos lácteos, el cual es percibido positivamente por muchos consumidores como “imagen verde” a causa de su asociación con animales en pastoreo (Descalzo *et al.*, 2012). En este sentido, la luteína puede ser usada como un biomarcador de alimentación con pasturas, ya que los animales no pueden sintetizar esta molécula (Prache *et al.*, 2005). Martin *et al.* (2004) concluyeron que dietas ricas en concentrado o ensilaje de maíz conducirían a un menor contenido de carotenoides y vitamina E en leche con respecto a dietas basadas en pasturas. Esto se debe a que los forrajes frescos son ricos en estos compuestos bioactivos y la recuperación de los mismos en la leche está directamente relacionada con su concentración en el forraje. En línea con estos autores, en el presente ensayo las concentraciones de retinol, β -caroteno, luteína y α -tocoferol en grasa láctea aumentaron significativamente con el incremento de la relación pastura:TMR (Cuadro 27).

Estudios previos mostraron resultados similares (La Terra *et al.*, 2010; Rossetti *et al.*, 2010). La Terra *et al.* (2010) evaluaron distintas combinaciones de TMR:pastura (100:0, 70:30 y 30:70 %) en vacas Holstein en lactancia tardía y reportaron incrementos significativos en las concentraciones de α -tocoferol, retinol y β -caroteno en grasa butirosa con la participación creciente de pastura en la dieta. A su vez, Rossetti *et al.* (2010) alimentaron vacas Holstein en lactancia media con dos dietas isoenergéticas de naturaleza contrastante, 70 % pastura de alfalfa + concentrado (ALF) vs. TMR basada en ensilaje de sorgo granífero (SS). Las concentraciones de α -tocoferol, retinol y β -caroteno en grasa láctea resultaron significativamente mayores en ALF. Entretanto, la concentración de γ -tocoferol fue significativamente mayor en SS, probablemente debido a la presencia de expeller de soja, ya que este subproducto contribuyó con la mayor proporción de γ -tocoferol en SS. Coincidentemente, en este estudio la concentración de γ -tocoferol incrementó significativamente con el nivel de inclusión de TMR en la dieta (Cuadro 27).

Los contrastes revelaron incrementos lineales ($P < 0,01$) para las concentraciones de retinol, β -caroteno, luteína y α -tocoferol y decrementos lineales ($P < 0,01$) para la concentración de γ -tocoferol con consumos crecientes de pastura en reemplazo de TMR.

3.5. CONCLUSIONES

El consumo de forraje fresco en combinación con TMR representó una estrategia adecuada para mantener un alto nivel de producción de leche en vacas de alto mérito genético. La producción de leche y sólidos incrementó linealmente ante consumos crecientes de TMR cuando los mismos representaron entre el 30 y el 100% de la MS total consumida por vacas produciendo 27,0-34,0 kg leche día⁻¹, sin efectos sobre los contenidos de grasa y proteína que resultaron similares entre tratamientos. Este incremento estaría explicado por un mayor consumo de energía combinado con una disminución en el gasto energético asociado a la actividad de pastoreo. Las condiciones de reemplazo de pastura por TMR deberían definirse teniendo en cuenta el efecto depresor de la pastura sobre el consumo total de MS y energía detectado cuando la misma es incluida en una alta proporción en las raciones parcialmente mezcladas. Este efecto puede amplificar el balance energético negativo en vacas lecheras de alta producción en lactancia temprana, con un incremento en las pérdidas de peso vivo y condición corporal y mayores niveles circulantes de ácidos grasos no esterificados y GH. Algunas deficiencias en la calidad del forraje combinadas con potenciales factores de comportamiento animal podrían exacerbar estos efectos. Los resultados también sugieren que la eficiencia de conversión no puede ser alterada. Los diferentes escenarios nutricionales generados con las combinaciones de TMR y pastura evaluadas no indujeron cambios en el ambiente ruminal ni generaron efectos asociativos negativos sobre la degradación ruminal de la fibra de los forrajes, sugiriendo que los efectos positivos del consumo de niveles crecientes de TMR sobre la producción de leche no estarían aparentemente explicados por un mejor equilibrio de nutrientes a nivel ruminal. La calidad nutricional y antioxidante de la leche disminuyó a medida que la cantidad de pastura consumida fue menor debido al menor contenido de ácidos grasos saludables como el ruménico y el linolénico y la reducción en el contenido de vitaminas antioxidantes. Será interesante evaluar el efecto del reemplazo de pastura por TMR en experimentos continuos de lactancia completa en vacas de alto mérito genético con el fin de cuantificar los efectos actuales y residuales sobre la producción de leche, así como la forma de la curva de lactancia y los cambios en parámetros asociados a la movilización de reservas corporales, hormonas reproductivas y eficiencia de conversión.

3.6. BIBLIOGRAFÍA

- ABUGHAZALEH, A.A.; FELTON, D.O.; IBRAHIM, S.A. 2007. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil and sunflower oil supplementation to dairy cows managed under two feeding systems. *J. Dairy Sci.* 90: 4763–4769.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Arlington, VA, USA.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1998. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Arlington, VA, USA.
- ARNOTT, G.; FERRIS, C.P.; O'CONNELL, N.E. 2017. Review: welfare of dairy cows in continuously housed and pasture-based production systems. *Animal* 11(2): 261-273.
- ASTESSIONO, A.L.; MEIKLE, A.; FAJARDO, M.; GIL, J.; MATTIAUDA, D.A.; CHILIBROSTE, P.; CARRIQUIRY, M. 2015. Metabolic and endocrine profiles and hepatic gene expression of Holstein cows fed total mixed ration or pasture with different grazing strategies during early lactation. *Acta Vet Scand* 57:70.
- AULDIST, M.J.; MARETT, L.C.; GREENWOOD, J.S.; WRIGHT, M.M.; HANNAH, M.; JACOBS, J.L.; WALES, W.J. 2014. Replacing wheat with canola meal in a partial mixed ration increases the milk production of cows grazing at a restricted pasture allowance in spring. *Anim. Prod. Sci.* 54: 869–878.
- BARGO, F.; REARTE, D.H.; SANTINI, F.J.; MULLER, L.D. 2001. Ruminant digestion by dairy cows grazing winter oats pasture supplemented with different levels and sources of protein. *J. Dairy Sci.* 84: 2260–2272.
- BARGO, F.; MULLER, L.D.; DELAHOY, J.E.; CASSIDY, T.W. 2002a. Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 85: 2948–2963.
- BARGO, F.; MULLER, L.D.; DELAHOY, J.E.; CASSIDY, T.W. 2002b. Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. *J. Dairy Sci.* 85: 1777–1792.
- BARGO, F.; MULLER, L.D.; VARGA, G.A.; DELAHOY, J.E.; CASSIDY, T.W. 2002. Ruminant digestion and fermentation of high-producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 85: 2964–2973.
- BARGO, F.; MULLER, L.D.; KOLVER, E.S.; DELAHOY, J.E. 2003. Invited review: production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. *J. Dairy Sci.* 86: 1–42.
- BARGO, F.; DELAHOY, J.E.; SCHROEDER, G.F.; BAUMGARD, L.H.; MULLER, L.D. 2006. Supplementing total mixed rations with pasture increase the content of conjugated linoleic acid in milk. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131: 226-240.

- BARKEMA, H.W.; SCHUKKEN, Y.H.; LAM, T.J.G.M.; BEIBOER, M.L.; BENEDICTUS, G.; BRAND, A. 1999. Management practices associated with the incidence rate of clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 82: 1643–1654.
- BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: Low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci.* 70: 15–29.
- BAUMAN, D.E.; CORL, B.A.; BAUMGARD, L.H.; GRIINARI, J.M. 2001. Conjugated linoleic acid (CLA) and the dairy cow. In: Garnsworthy, P.C.; Wiseman, J (eds.). *Recent advances in animal nutrition*. Nottingham University Press, Nottingham. pp. 221-250.
- BENDIXEN, P.H.; VILSON, B.; EKESBO, I.; ASTRAND, D.B. 1986. Disease frequencies of tied zero-grazing dairy cows and of dairy cows on pasture during summer and tied during winter. *Prev. Vet. Med.* 4: 291–306.
- BENDIXEN, P.H.; VILSON, B.; EKESBO, I.; ASTRAND, D.B. 1988. Disease frequencies in dairy cows in Sweden. 5. Mastitis. *Prev. Vet. Med.* 5: 263–274.
- BOKEN, S.L.; STAPLES, C.R.; SOLLENBERGER, L.E.; JENKINS, T.C.; THATCHER, W.W. 2005. Effect of grazing and fat supplementation on production and reproduction of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 88: 4258–4272.
- BREEN, J.E.; GREEN, M.J.; BRADLEY, A.J. 2009. Quarter and cow risk factors associated with the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in the United Kingdom. *J. Dairy Sci.* 92: 2551–2561.
- BREIER, B.H.; GLUCKMAN, P.D.; BASS, J.J. 1988. The somatotrophic axis in young steers: influence of nutritional status and oestradiol-17b on hepatic high- and low-affinity somatotrophic binding sites. *J. Endocrinol.* 116: 169–177.
- BUROW, E.; THOMSEN, P.T.; SORENSEN, J.T.; ROUSING, T. 2011. The effect of grazing on cow mortality in Danish dairy herds. *Prev. Vet. Med.* 100: 237–241.
- CAJARVILLE, C.; MENDOZA, A.; SANTANA, A.; REPETTO, J.L. 2012. En tiempo de intensificación productiva, ¿cuánto avanzamos en el conocimiento de los nuevos sistemas de alimentación de la vaca lechera? *Veterinaria (Montevideo)* 48: 35–39.
- CALDERÓN, F.; CHAUVEAU-DURIOT, B.; PRADEL, P.; MARTIN, B.; GRAULET, B.; DOREAU, M.; NOZIÈRE, P. 2007. Variations in Carotenoids, Vitamins A and E, and Color in Cow's Plasma and Milk Following a Shift from Hay Diet to Diets Containing Increasing Levels of Carotenoids and Vitamin E. *J. Dairy Sci.* 90: 5651-5664.
- CHILIBROSTE, P.; GIBB, M.; TAMMINGA, S. 2005. Pasture characteristics and animal performance. In: *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*, 2nd edition. CAB International. Wallingford, UK. pp: 681-706.

- CHILLIARD, Y.; BOCQUIER, F.; DOREAU, M. 1998. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reprod. Nutr. Dev.* 38: 131-152.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; MANSBRIDGE, R.M.; DOREAU, M. 2000. Ruminal milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.* 49: 181–205.
- CISSÉ, M.; CHILLIARD, Y.; COXAM, V.; DAVICCO, M.J.; REMOND, B. 1991. Slow release somatotropin in dairy heifers and cows fed two levels of energy concentrate. 2. Plasma hormones and metabolites. *J. Dairy Sci.* 74: 1382-1394.
- COPPOCK, C.E.; BATH, D.L.; HARRIS, B. 1981. From feeding to feeding systems. *J. Dairy Sci.* 64: 1230-1249.
- CORREA, H.J.; CUELLAR, A.E. 2004. Aspectos clave del ciclo de la urea con relación al metabolismo energético y proteico en vacas lactantes. *Rev Col Cienc Pec* 17 (1): 29-38.
- DELABY, L.; PEYRAUD, J.L. 1997. Influence of concentrate supplementation strategy on grazing dairy cow's performance, in: Christie B.R. (ed.), *Proceedings of the XVIII International Grassland Congress, Winnipeg, Canada*, pp. 137–138.
- DELAGARDE, R.; PRACHE, S.; D'HOOR, P.; PETIT, M. 2001. Ingestion de l'herbe par les ruminants au pâturage. *Fourrages* 166: 189–212.
- DELAGARDE, R.; PEYRAUD, J.L.; DELABY, L. 2004. High grazing pressure in early-spring increases herbage intake of grazing dairy cows in late-spring. In: *Land Use Systems in Grassland Dominated Regions. Proc. 20th General Meeting of EGF, 21-24 June, Lucerna, Suiza*, pp.647-649.
- DESCALZO, A.M.; ROSSETTI, L.; PÁEZ, R.; GRIGIONI, G.; GARCÍA, P.T.; COSTABEL, L.; ...; TAVERNA, M.A. 2012. Differential characteristics of milk produced in grazing systems and their impact on dairy products. In: Chaiyabutr, N. (ed.), *Milk Production – Advanced Genetic Traits, Cellular Mechanism, Animal Management and Health*, IntechOpen. pp. 339–368
- DHIMAN, T.R.; ANAND, G.R.; SATTER, L.D.; PARIZA, M.W. 1999. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *J. Dairy Sci.* 82: 2146–2156.
- DILLON, P.; HENNESSY, T.; SHALLOO, L.; THORNE, F.; HORAN, B. 2008. Future outlook for the Irish dairy industry: A study of international competitiveness, influence of international trade reform and requirement for change: Review. *Int. J. Dairy Technol.* 61: 16-29.
- DIXON, R.M.; STOCKDALE, C.R. 1999. Associative effects between forages and grains: consequences for feed utilization. *Aust. J. Agric. Res.* 50: 757-773.

- DOYLE, P.T.; FRANCIS, S.A.; STOCKDALE, C.R. 2005. Associative effects between feeds when concentrate supplements are fed to grazing dairy cows: a review of likely impacts on metabolisable energy supply. *Aust. J. Agric. Res.* 56: 1315-1329.
- DRANSFIELD, M.B.G.; NEBEL, R.L.; PEARSON, R.E.; WARNICK, L.D. 1998. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. *J. Dairy Sci.* 81: 1874–1882.
- DUFFIELD, T.F.; RABBIE, A.R.; LEAN, I.J. 2008. A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 1. Metabolic effects. *J. Dairy Sci.* 91: 1334-1346.
- DURR, J.W.; CUE, R.I.; MONARDES, H.G.; MORO-MENDEZ, J.; WADE, K.M. 2008. Milk losses associated with somatic cell counts per breed, parity, and stage of lactation in Canadian dairy cattle. *Livest. Sci.* 117: 225–232.
- ELGERSMA, A.; WEVER, A.C. 2005. Grazing fresh grass at a high herbage allowance results in milk with a higher CLA concentration than a maize silage diet. In: *Modern aspects of fats and oils. Abstracts of the 26th World Congress and Exhibition of the International Society for fat research (ISF), Prague, Czech Republic*, pp.61.
- ELGERSMA, A.; TAMMINGA, S.; ELLEN, G. 2006. Modifying milk composition through forage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131: 207–225.
- ELIZALDE, J.C.; REARTE, D.H.; SANTINI, F.J. 1992. Corn silage supplementation of cows grazing winter oats. Dynamics of digestion and ruminal environment. *Anim. Feed Sci. Technol.* 38: 161-174.
- ELLIS, K.A.; INNOCENT, G.T.; MIHM, M.; CRIPPS, P.; MCLEAN, W.G.; HOWARD, C.V.; GROVE-WHITE, D. 2007. Dairy cow cleanliness and milk quality on organic and conventional farms in the UK. *J. Dairy Res.* 74: 302–310.
- FAJARDO, M.; MATTIAUDA, D.A.; MOTTA, G.; GENRO, T.C.; MEIKLE, A.; CARRIQUIRY, M.; CHILIBROSTE, P. 2015. Use de mixed rations with different access time to pastureland on productive responses of early lactation holstein cows. *Livest. Sci.* 181: 51-57.
- FERNÁNDEZ, H.H. 2004. Un procedimiento simple para estimar parámetros de funciones útiles en producción animal usando solver de Excel. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 24 (1-2): 75-85.
- FONTANELI, R.S.; SOLLENBERGER, L.E.; LITTELL, R.C.; STAPLES, C.R. 2005. Performance of lactating dairy cows managed on pasture-based or in freestall barn-feeding systems. *J. Dairy Sci.* 88: 1264–1276.
- FRIGGENS, N.C.; OLDHAM, J.D.; DEWHURST, R.J.; HORGAN, G. 1998. Proportions of Volatile Fatty Acids in Relation to the Chemical Composition of Feeds Based on Grass Silage. *J Dairy Sci.* 81: 1331–1344.

- GAGGIOTTI, M.G.; SALADO, E.E; GALLARDO, M.R.; ARAKAKI, L.C.; VALTORTA, S.E.; CASTRO, H.C. 2007. Degradabilidad *in situ* de las harinas de colza y de soja y los efectos de su suplementación sobre el ambiente ruminal de vacas lecheras con acceso a pastoreo de alfalfa. Arch. Latinoam. Prod. An. 15(supl 1):373-374.
- GAGLIOSTRO, G.A. 2004. Control nutricional del contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en leche y su presencia en alimentos naturales funcionales. 1. Efectos sobre la salud humana. Rev. Arg. Prod. Anim. 24 (3-4): 113-136.
- GARCÍA, S.C.; SANTINI, F.J.; ELIZALDE, J.C. 2000. Sites of digestion and bacterial protein synthesis in dairy heifers fed fresh oats with or without corn or barley grain. J. Dairy Sci. 83: 746–755.
- GARCIA, S.C.; FULKERSON, W.J. 2005. Opportunities for future Australian dairy systems: a review. Aust. J. Exp. Agr. 45: 1041-1055.
- GASTALDI, L.; LITWIN, G.; MAEKAWA, M.; CENTENO, A.; ENGLER, P.; CUATRIN, A.; CHIMICZ, J.; FERRER, J.L.; SUERO M. 2015. El tambo argentino: una mirada integral de los sistemas de producción de leche de la Región Pampeana. Recuperado de: https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_el_tambo_argentino_mirada_integral_sis_prod_leche_pamp_abril_2015.pdf
- GOLDBERG, J.J.; WILDMAN, E.E.; PANKEY, J.W.; KUNKEL, J.R.; HOWARD, D.B.; MURPHY, B.M. 1992. The influence of intensively managed rotational grazing, traditional continuous grazing, and confinement housing on bulk tank milk quality and udder health. J. Dairy Sci. 75: 96–104.
- GREEN, L.E.; SCHUKKEN, Y.H.; GREEN M.J. 2006. On distinguishing cause and consequence: Do high somatic cell counts lead to lower milk yield or does high milk yield lead to lower somatic cell count? Prev. Vet. Med. 76: 74–89.
- GRUMMER, R.R. 1995. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. J. Anim. Sci. 73: 2820–2833.
- HAMILTON, B.A.; ASHES, J.R.; CARMICHAEL, A.W. 1992. Effect of formaldehyde-treated sunflower meal on the milk production of grazing dairy cows. Aust. J. Agric. Res. 43: 379-387.
- HAND, K.J.; GODKIN, A.; KELTON, D.F. 2012. Milk production and somatic cell counts: A cow-level analysis. J. Dairy Sci. 95: 1358– 1362.
- HASKELL, M.J.; RENNIE, L.J.; BOWELL, V.A.; BELL, M.J.; LAWRENCE, A.B. 2006. Housing system, milk production, and zero-grazing effects on lameness and leg injuries in dairy cows. J. Dairy Sci. 89: 4259–4266.
- HESS, T.M.; KRONFELD, D.S.; TREIBER, K.H.; BYRD, B.M.; STANIAR, W.B.; SPLAN, R.K. 2005. Laminitic metabolic profile in genetically predisposed ponies involves exaggerated compensated insulin resistance. J. Anim.Physiol. An. N. 89 (11-12): 431.

- HILLS, J.L.; WALES, W.J.; DUNSHEA, F.R.; GARCIA, S.C.; ROCHE, J.R. 2015. Invited review: An evaluation of the likely effects of individualized feeding of concentrate supplements to pasture-based dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:1363-1401.
- HOLDEN, L.A.; MULLER, L.D.; VARGA, G.A.; HILLARD, P.J. 1994. Ruminal digestion and duodenal nutrient flows in dairy cows consuming grass as pasture, hay, or silage. *J. Dairy Sci.* 77: 3034–3042.
- ISO 9622 IDF 141. 2013. Milk and Liquid Milk Products—Guidelines for the Application of Mid-Infrared Spectrometry.
- JAHREIS, G.; FRITSCHE, J.; STEINHART, H. 1997. Conjugated linoleic acid in milk fat: High variation depending on production system. *Nutr. Res.* 17: 1479–1484.
- KAY, J.K.; MACKLE, T.R.; AULDIST, M.J.; THOMSON, N.A.; BAUMAN, D.E. 2004. Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture. *J. Dairy Sci.* 87: 369–378.
- KAY, J.K.; ROCHE, J.R.; KOLVER, E.S.; THOMSON, N.A.; BAUMGARD, L.H. 2005. A comparison between feeding systems (pasture and TMR) and the effect of vitamin E supplementation on plasma and milk fatty acid profiles in dairy cows. *J. Dairy Res.* 72: 322–332.
- KELLAWAY, R.; HARRINGTON, T. 2004. Feeding Concentrates, supplements for Dairy Cows. (rev. ed.), . Landlinks Press, Collingwood. 171p.
- KELLY, M.L.; KOLVER, E.S.; BAUMAN, D.E.; VAN AMBURGH, M.E.; MULLER, L.D. 1998. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81: 1630–1636.
- KEMURA, F.T.; MILLER, V.L. 1970. Determinación de óxido crómico en alimento y heces ($\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$). En: Bateman, J.N. *Nutrición Animal: manual de métodos analíticos*. CRAT: Mexico. pp. 367-369.
- KOLVER, E.S.; MULLER, L.D. 1998. Performance and nutrient intake of high producing Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 81: 1403–1411.
- KOLVER, E.S.; ROCHE, J.R.; DE VETH, M.J.; THORNE, P.L.; NAPPER, A.R. 2002. Total mixed rations versus pasture diets: Evidence for a genotype x diet interaction in dairy cow performance. *Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.* 62: 246-251.
- KOMAREK, A.R. 1993. An improved filtering technique for the analysis of neutral detergent fiber and acid detergent fiber utilizing the filter bag technique. Ankom Tech. Corp., Fairport, NY. USA. Publication N° 101, pp. 1-10.

- KRAUSE, K.M.; COMBS, D.K.; BEAUCHEMIN, K.A. 2002. Effects of Forage Particle Size and Grain Fermentability in Midlactation Cows. II. Ruminal pH and Chewing Activity. *J. Dairy Sci.* 85: 1947–1957.
- LAMMERS, B.P.; BUCKMASTER, D.R.; HEINRICHS, A.J. 1996. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 79: 922-928.
- LA TERRA, S.; MARINO, V.M.; MANENTI, M.; LICITRA, G.; CARPINO, S. 2010. Increasing pasture intakes enhances polyunsaturated fatty acids and lipophilic antioxidants in plasma and milk of dairy cows fed total mix ration. *Dairy Sci. Technol.* 90: 687–698.
- LEDDIN, C.M.; STOCKDALE, C.R.; HILL, J.; HEARD, J.W.; DOYLE, P.T. 2010. Increasing amounts of crushed wheat fed with Persian clover herbage reduced ruminal pH and dietary fiber digestibility in lactating dairy cows. *Anim. Prod. Sci.* 50: 837-846.
- LOOR, J.J.; SORIANO, F.D.; LIN, X.; HERBEIN, J.H.; POLAN, C.E. 2003 Grazing allowance after the morning or afternoon milking for lactating dairy cows fed a total mixed ration (TMR) enhances trans 11–18:1 and cis 9, trans 11–18:2 (rumenic acid) in milk fat to different extents. *Anim. Feed Sci. Technol.* 109: 105–119.
- LUNA, P.; JUAREZ, M.; DE LA FUENTE, M.A. 2005. Validation of a rapid milk fat separation method to determine the fatty acid profile by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 88: 377– 381.
- MARTIN, B.; FEDELE, V.; FERLAY, A.; GROLIER, P.; ROCK, E.; GRUFFAT, D.; CHILLIARD, Y. 2004. Effects of grass-based diets on the content of micronutrients and fatty acids in bovine and caprine dairy products. In: Lüscher, A. et al. (eds.), *Land Use Systems in Grassland Dominated Regions*, vol. 9. Vdf, Zürich, pp. 876–886.
- MCGUIRE, M.A.; BAUMAN, D.E.; DWYER, D.A.; COHICK, W.S. 1995. Nutritional modulation of the somatotropin/insulin-like growth factor system: response to feed deprivation in lactating cows. *J. Nutr.* 125: 493–502.
- MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R. 1977. A study of artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *J. Agric. Sci., Camb.* 88: 645-650.
- MEIJS, J.A.C.; WALTERS, R.J.K.; KEEN, A. 1982. Sward methods. In: Leaver J.D. (ed) *Herbage intake handbook*. The British Grassland Society, Grassland Research Institute, Hurley, U.K. pp. 11-37.
- MENDOZA, A.; CAJAVILLE, C.; SANTANA, A.; REPETTO, J.L. 2011. ¿Hacia una nueva forma de pensar la alimentación de las vacas lecheras? La inserción del confinamiento en los sistemas pastoriles de producción de leche. XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría. 9 de junio. Paysandú, Uruguay. pp. 82-90.
- MERTENS, D.R.; LOFTEN, J.R. 1980. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics in vitro. *J. Dairy Sci.* 63: 1437-1446.

- MERTENS, D.R. 1994. Regulation of forage intake. In: Fahey (Jr), G.C..et al. (eds.) Forage Quality, Evaluation and Utilization. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, pp, 450-493
- MILLER, R.H.; NORMAN, H.D.; WIGGANS, G.R.; WRIGHT, J.R. 2004. Relationship of test-day somatic cell score with test-day lactation milk yields. *J. Dairy Sci.* 87: 2299–2306.
- MINSON, D.J. 1990. Forage in ruminant nutrition. Academic Press Inc., San Diego, California. 482 p.
- MOORE, K.C. 1998. Economics of grass for dairy cattle. In: Cherney, J.H.; Cherney, D.J.R. (eds.) Grass for Dairy Cattle. CAB International, New York, NY, pp.373–391
- MORALES-ALMARÁZ, E.; SOLDADO, A.; GONZÁLEZ, A.; MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, A.; DOMÍNGUEZ-VARA, I.; DE LA ROZA-DELGADO, B.; VICENTE, F. 2010. Improving the fatty acid profile of dairy cow milk by combining grazing with feeding of total mixed ration. *J. Dairy Res.* 77: 225–230.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC, USA. 405p.
- NIELSEN, B.H.; THOMSEN, P.T.; SORENSEN, J.T. 2011. Identifying risk factors for poor hind limb cleanliness in Danish loose housed dairy cows. *Animal* 5: 1613–1619.
- NORO, M.; VARGAS, V.; PULIDO, R.G.; WITTEWER, F. 2006. Efecto del tipo de concentrado sobre indicadores sanguíneos del metabolismo de energía y de proteínas en vacas lecheras en pastoreo primaveral. *Arch. Med. Vet.* 38: 227-232.
- NOZIÈRE, P.; GRAULET, B.; LUCAS, A.; MARTIN, B.; GROLIER, P.; DOREAU, M. 2006. Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131: 418–450.
- OLMOS, G.; BOYLE, L.; HANLON, A.; PATTON, J.; MURPHY, J.J.; MEE, J.F. 2009. Hoof disorders, locomotion ability and lying times of cubicle-housed compared to pasture-based dairy cows. *Livest. Sci.* 125: 199–207.
- O'NEILL, B.F.; DEIGHTON, M.H.; O'LOUGHLIN, B.M.; MULLIGAN, F.J.; BOLAND, T.M.; O'DONOVAN, M.; LEWIS, E. 2011. Effects of a perennial ryegrass diet or total mixed ration diet offered to spring-calving Holstein-Friesian dairy cows on methane emissions, dry matter intake, and milk production. *J. Dairy Sci.* 94: 1941–1951.
- ØRSKOV, E.R.; MCDONALD, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci., Camb.* 92: 499-503.
- PALMER, M.A.; OLMOS, G.; BOYLE, L.A.; MEE, J.F. 2012. A comparison of the estrous behavior of Holstein-Friesian cows when cubicle-housed and at pasture. *Theriogenology* 77: 382–388.

- PARODI, P.W. 1999. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J. Dairy Sci.* 82: 1339-1349.
- PEYRAUD, J.L.; COMERON, E.A.; WADE, M.H.; LEMAIRE, G. 1996. The effect of daily herbage allowance, herbage mass and animal factors upon herbage intake by grazing dairy cows. *Ann. Zootech.* 45 (3): 201-217.
- PEYRAUD, J.L.; DELABY, L. 2005. Combiner la gestion optimale du pâturage et les performances des vaches laitières: enjeux et utiles. *INRA Prod. Anim.* 18 (4): 231-240.
- POLLOTT, G.E.; COFFEY, M.P. 2008. The effect of genetic merit and production system on dairy cow fertility, measured using progesterone profiles and on-farm recording. *J. Dairy Sci.* 91: 3649–3660.
- PRACHE, S.; CORNU, A.; BERDAGUÉ, J.L.; PRIOLO, A. 2005. Traceability of animal feeding diet in the meat and milk of small ruminants. *Small Ruminant Res.* 59: 157-168.
- QUILAGUY, G.A. 2015. Respuesta productiva de vacas lecheras alimentadas con diferentes niveles de ración totalmente mezclada y pastura. Tesis Magister Scientiae. Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias, Balcarce, Argentina. 86p.
- RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. 2006. *Veterinary medicine*, 10th ed. Saunders Elsevier, Edinburgh, pp. 2162-2165.
- REIS, R.B.; COMBS, D.K. 2000. Effects of increasing levels of grain supplementation on rumen environment and lactation performance of dairy cows grazing grass–legume pasture. *J. Dairy Sci.* 83: 2888–2898.
- ROSSETTI, L.; LANGMAN, L.; GRIGIONI, G.M.; BIOLATTO, A.; SANCHO, A.M.; COMERÓN, E.; DESCALZO, A.M. 2010. Antioxidant status and odor profile in milk from silage or alfalfa-fed cows. *Australian J. Dairy Tech.* 65 (1): 3-9.
- RUSHEN, J.; DE PASSILLÉ, A.M.; VON KEYSERLINGK, M.; WEARY, D. 2008. Housing for adult cattle. In: *The welfare of cattle*. Springer. Amsterdam, Netherlands. pp: 142-180.
- SALADO, E.E.; GAGLIOSTRO, G.A.; BECU-VILLALOBOS, D.; LACAU-MENGIDO, I. 2004. Partial replacement of corn grain by hydrogenated oil in grazing dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 87: 1265-1278.
- SAS Institute Inc. 2010. *SAS/STAT® User’s Guide (2002-2010)*. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- SAYERS, H.J.; MAYNE, C.S.; BARTRAM, C.G. 2003. The effect of level and type of supplement offered to grazing dairy cows on herbage intake, animal performance and rumen fermentation characteristics. *Anim. Sci.* 76: 439-454.

- SCHINGOETHE, D.J. 2017. A 100-Year Review: Total mixed ration feeding of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100: 10143–10150.
- SCHREINER, D.A.; RUEGG, P.L. 2003. Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 86: 3460–3465.
- SCHREZENMEIR, J.; JAGLA, A. 2000. Milk and diabetes. *J. Am. Coll. Nutr.*, 19 (2), 176s-190s.
- SHEAHAN, A.J.; KOLVER, E.S.; ROCHE, J.R. 2011. Genetic strain and diet effects on grazing behavior, pasture intake, and milk production. *J. Dairy Sci.* 94: 3583–3591.
- SHORT, S.D. 2004. Characteristics and Production Costs of U.S. Dairy Operations. United States Department of Agriculture, Economic Research Service Statistical Bulletin No. 974–6. 20 p.
- SODER, K.J.; ROTZ, C.A. 2003. Economic and environmental impact of utilizing a total mixed ration in Pennsylvania grazing dairy herds. *Prof. Anim. Sci.* 19: 304–311.
- SOMERS, J.G.C.J.; FRANKENA, K.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E.N.; METZ, J.H.M. 2005. Risk factors for interdigital dermatitis and heel erosion in dairy cows kept in cubicle houses in The Netherlands. *Prev. Vet. Med.* 71: 23-34.
- SORIANO, F.D.; POLAN, C.E.; MILLER, C.N. 2000. Milk production and composition, rumen fermentation parameters, and grazing behavior of dairy cows supplemented with different forms and amounts of corn grain. *J. Dairy Sci.* 83: 1520–1529.
- SORIANO, F.D.; POLAN, C.E.; MILLER, C.N. 2001. Supplementing pasture to lactating Holsteins fed a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 84: 2460–2468.
- STANTON, C.; MURPHY, J.; MCGRATH, E.; DEVERY, R. 2003. Animal feeding strategies for conjugates linoleic acid enrichment of milk. In: Sébédio, J.L.; Christie, W.W.; Adloff, R. (eds.). *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food*. Vol 2. AOCS Press: Illinois, pp.123-145.
- ST-PIERRE, N.R. 2001. Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. *J. Dairy Sci.* 84: 741–755.
- STRANG, B.; BERTICS, S.; GRUMMER, R.; ARMENTANO, L. 1998. Effect of long-chain fatty acids on triglyceride accumulation, gluconeogenesis, and ureagenesis in bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 81: 728-739.
- THORNE, P.L.; JAGO, J.G.; KOLVER, E.S.; ROCHE, J.R. 2003. Diet and genotype affect feeding behaviour of Holstein-Friesian dairy cows during late lactation. *Proc. NZ Soc. Anim. Prod.* 63: 124–127.

- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. 1963. A two-stage technique for in vitro digestion of forage crops. *J. Br. Grassland. Soc.* 18: 104-111.
- TUCKER, W.B.; RUDE, B.J.; WITTAYAKUN, S. 2001. Case Study: Performance and economics of dairy cows fed a corn silage-based total mixed ration or grazing annual ryegrass during mid to late lactation. *Prof. Anim. Sci.* 17: 195-201.
- TYRRELL, H.F.; REID, J.T. 1965. Prediction of the energy value of cow's milk. *J. Dairy Sci.* 48: 1215-1223.
- ULBRICHT, T.L.V.; SOUTHGATE, D.A.T. 1991. Coronary heart disease: Seven dietary factors. *The Lancet.* 338: 985-992.
- VANCE, E.R.; FERRIS, C.P.; ELLIOTT, C.T.; MCGETTRICK, S.A.; KILPATRICK, D.J. 2012. Food intake, milk production, and tissue changes of Holstein-Friesian and Jersey x Holstein-Friesian dairy cows within a medium-input grazing system and a high-input total confinement system. *J. Dairy Sci.* 95: 1527-1544.
- VAN KNEGSEL, A.T.M.; VAN DER BRAND, H.; GRAAT, E.A.M.; DIJKSTRA, J.; JORRITSMA, R.; DECUYPERE, E.; TAMMINGA, S.; KEMP, B. 2007. Dietary Energy Source in Dairy Cows in Early Lactation: Metabolites and Metabolic Hormones. *J. Dairy Sci.* 90: 1477-1485.
- VAN VUUREN, A. M.; VAN DER KOELEN, J.; VROONS-DE BRUIN, J. 1986. Influence of the level and composition of concentrate supplements on rumen fermentation patterns of grazing dairy cows. *Neth. J. Agric. Sci.* 34: 457-467.
- VAN VUUREN, A.M.; KROL-KRAMER, F.; VAN DER LEE, R.A.; CORBIJN, H. 1992. Protein digestion and amino acids in dairy cows fed fresh *Lolium perenne* with different nitrogen contents. *J. Dairy Sci.* 75: 2215-2225.
- VERITÉ, R.; JOURNET, M. 1970. Influence de la teneur en eau et de la deshydratation de l'herbe sur sa valeur alimentaire pour les vaches laitières. *Ann. Zootech.* 10: 269-277.
- VIBART, R. 2006. Performance of Lactating Dairy Cows Fed Varying Levels of Total Mixed Ration and Pasture. PhD. Thesis. Graduate Faculty of North Carolina State University, Animal Science and Poultry Science, Raleigh, North Carolina. 193 p.
- VIBART, R.E.; FELLNER, V.; BURNS, J.C.; HUNTINGTON, G.B.; GREEN, J.T. (Jr.). 2008. Performance of lactating dairy cows fed varying levels of total mixed ration and pasture. *J. Dairy Res.* 75: 471-480.
- VIBART, R.E.; BURNS, J.C.; FELLNER, V. 2010. Effect of replacing total mixed ration with pasture on ruminal fermentation. *Prof. Anim. Sci.* 26: 435-442.
- WALES, W.J.; DOYLE, P.T. 2003. Effect of grain and straw supplementation on marginal milk-production responses and rumen fermentation of cows grazing highly digestible subterranean clover pasture. *Aust. J. Exp. Agr.* 43: 467-474.

- WALES, W.J.; HEARD, J.W.; HO, C.K.M.; LEDDIN, C.M.; STOCKDALE, C.R.; WALKER, G.P.; DOYLE, P.T. 2006. Profitable feeding of dairy cows on irrigated dairy farms in northern Victoria. *Aust. J. Exp. Agr.* 46: 743–752.
- WALES, W.J.; MARETT, L.C.; GREENWOOD, J.S.; WRIGHT, M.M.; THORNHILL, J.B.; JACOBS, J.L.; HO, C.K.M.; AULDIST, M.J. 2013. Use of partial mixed rations in pasture-based dairying in temperate regions of Australia. *Anim. Prod. Sci.* 53: 1167–1178.
- WALKER, G.P.; STOCKDALE, C.R.; WALES, W.J.; DOYLE, P.T.; DELLOW, D.W. 2001. Effect of level of grain supplementation on milk production responses of dairy cows in mid-late lactation when grazing irrigated pastures high in paspalum (*Paspalum dilatatum* Poir.). *Aust. J. Exp. Agr.* 41: 1-11.
- WASHBURN, S.P.; WHITE, S.L.; GREEN, J.T. (Jr.); BENSON, G.A. 2002. Reproduction, mastitis, and body condition of seasonally calved Holstein and Jersey cows in confinement or pasture systems. *J. Dairy Sci.* 85: 105–111.
- WHITE, S.L.; SHEFFIELD, R.E.; WASHBURN, S.P.; KING, L.D.; GREEN, J.T. (Jr.). 2001a. Spatial and time distribution of dairy cattle excreta in an intensive pasture system. *J. Environ. Qual.* 30: 2180–2187.
- WHITE, S.L.; BERTRAND, J.A.; WADE, M.R.; WASHBURN, S.P.; GREEN, J.T. (Jr.); JENKINS, T.C. 2001b. Comparison of fatty acid content of milk from jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 84: 2295–2301.
- WHITE, S.L.; BENSON, G.A.; WASHBURN, S.P.; GREEN, J.T. (Jr.). 2002. Milk production and economic measures in confinement or pasture systems using seasonally calved Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 85: 95–104.
- WILDMAN, E.E.; JONES, G.M.; WAGNER, P.E.; BOMAN, R.L.; TROUTT, H.F.; LESCH, T.N. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J. Dairy Sci.* 65: 495-501.
- WILSON, D.J.; GONZÁLEZ, R.N.; HERTL, J.; SCHULTE, H.F.; BENNETT, G.J.; SCHUKKEN, Y.H.; GROHN, Y.T. 2004. Effect of Clinical Mastitis on the Lactation Curve: A Mixed Model Estimation Using Daily Milk Weights. *J. Dairy Sci.* 87: 2073–2084.
- WINDIG, J.J.; CALUS, M.P.L.; VEERKAMP, R.F. 2005. Influence of herd environment on health and fertility and their relationship with milk production. *J. Dairy Sci.* 88: 335–347.
- ZEBELI, Q.; MANSMANN, D.; STEINGASS, H.; AMETAJ, B.N. 2010. Balancing diets for physically effective fibre and ruminally degradable starch: A Key to lower the risk of sub-acute rumen acidosis and improve productivity of dairy cattle. *Livest. Sci.* 127: 1-10.

ZEBELI, Q.; ASCHENBACH, J.R.; TAJAJ, M.; BOGUHN, J.; AMETAJ, B.N.; DROCHNER, W. 2012. *Invited review*: Role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 95: 1041–1056.

ZOBEL, R.; TKALCIC, S.; PIPAL, I.; BUIC, V. 2011. Incidence and factors associated with early pregnancy losses in Simmental dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 127: 121–125.

4. INTEGRACIÓN DE RESULTADOS

En el marco de un proyecto institucional, durante los años 2008 y 2009, se realizaron una serie de cuatro ensayos similares, dos en la EEA INTA Rafaela (correspondientes al presente trabajo de tesis) y dos en la EEA INTA Balcarce (Antonacci *et al.*, 2009; Araujo, 2013), de respuesta a la suplementación con niveles crecientes de concentrado energético a vacas en primer tercio de lactancia bajo condiciones de pastoreo primaveral y oferta no limitante de forraje.

Con el objetivo de analizar la información generada de una manera integrada, las respuestas en producción y composición de leche en función del nivel de suplementación ($\text{kg MS vaca}^{-1} \text{ día}^{-1}$) fueron analizadas por regresión múltiple con la incorporación de variables cualitativas (Freund y Litell, 1981). Estas últimas contemplan el hecho que los ensayos (si bien tienen tratamientos similares) se realizaron con grupos de animales diferentes, en distintos años y que emplearon diseños estadísticos diferentes. Para verificar si la respuesta (que por contrastes dio lineal en los ensayos de la EEA Rafaela) fue similar en todos los ensayos se implementó un test de paralelismo y coincidencia.

La composición del concentrado utilizado fue similar para los cuatro ensayos (68% grano de maíz, 22% harina de soja, 8% afrechillo de trigo y núcleo vitamínico-mineral con monensina) y el nivel de suplementación fluctuó entre 2,7 y 11,6 $\text{kg MS vaca}^{-1} \text{ día}^{-1}$. Los rangos de oferta forrajera y calidad de las pasturas para los distintos ensayos fueron: 27,0 a 35,9 $\text{kg MS vaca}^{-1} \text{ día}^{-1}$; 20,3 a 30,8% MS; 18,3 a 25,1% PB; 34,8 a 50,2% FDN; 19,9 a 25,8% FDA y 69,6 a 75,2% DIVMS respectivamente. El nivel de producción promedio de las vacas al comienzo de los ensayos fue 34,1 $\text{kg leche vaca}^{-1} \text{ día}^{-1}$.

Se determinó que sólo para la variable producción de leche las 4 rectas de regresión resultaron paralelas y coincidentes, ajustando la siguiente ecuación de respuesta marginal para los 4 ensayos:

$$\text{Leche (kg día}^{-1}\text{)} = 25,95 + 0,774 \times \text{kg MS concentrado (p < 0,042; R}^2 = 0,37)$$

La misma indica que la producción de leche incrementa linealmente a medida que la cantidad de concentrado aumenta desde 2,7 a 11,6 $\text{kg MS vaca}^{-1} \text{ día}^{-1}$, con una respuesta de 0,774 $\text{kg leche kg MS concentrado adicional}^{-1}$ (Figura 25).

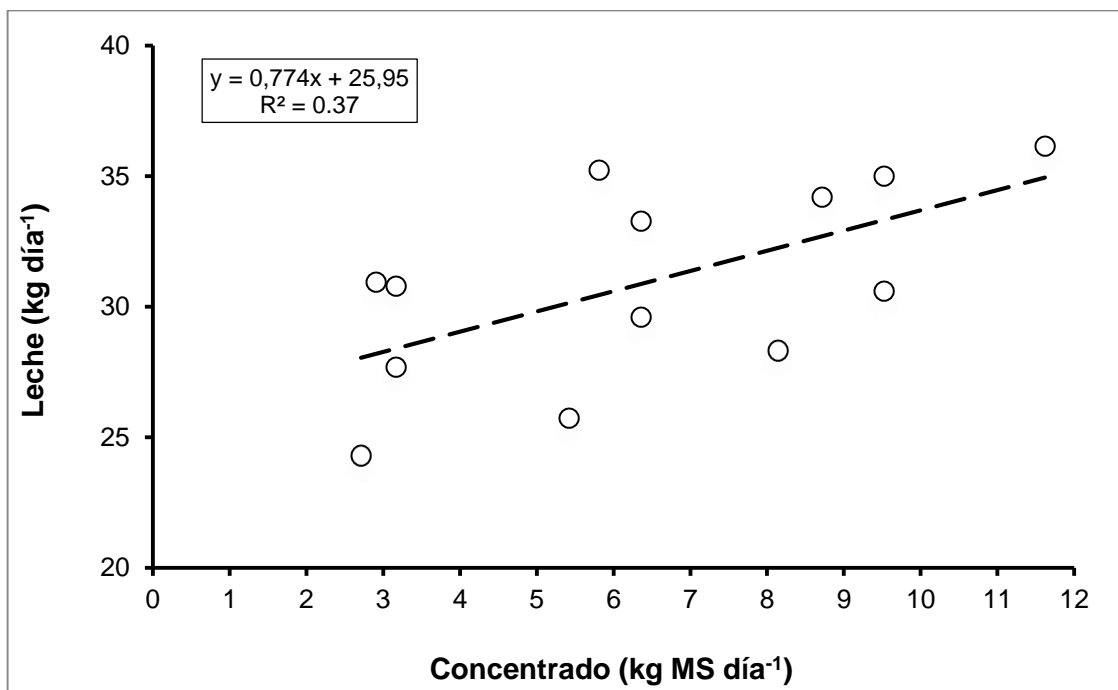


Figura 25: Relación entre producción de leche y nivel de suplementación con concentrado en vacas lecheras en pastoreo. Círculos claros corresponden a valores actuales (a partir de Ensayos 1 y 2 del presente trabajo de tesis; Antonacci *et al.*, 2009; Araujo, 2013) y línea discontinua corresponde a recta de regresión.

En función de la ecuación obtenida se determinó la cantidad de concentrado a suministrar en primavera en el grupo tratamiento del Ensayo (4), utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{kg MS concentrado} = (\text{Producción de leche actual} - 25,95)/0,774$$

Para el resto de las variables de producción y composición de leche, las rectas resultaron paralelas y no coincidentes, dando origen a 4 ecuaciones distintas.

La respuesta inmediata o marginal es aquella que se expresa en el corto plazo luego de implementada la suplementación y es el resultado del total de nutrientes absorbidos y la forma en que los mismos se particionan entre producción de leche y ganancia de peso. La misma ha sido descrita como curvilínea ante cantidades crecientes de concentrado (Kellaway y Porta, 1993). De esta forma, en algunos estudios la respuesta marginal disminuyó por encima de 3 a 4 kg MS día⁻¹ de concentrado, pero este resultado no es consistente y ocurrió con vacas de moderado potencial de producción (menor a 25 kg día⁻¹; Peyraud y Delaby, 2001). La mayor respuesta a la suplementación con concentrado en

vacas de alto mérito genético puede ser atribuida a una mayor partición de nutrientes para producción de leche con respecto a vacas de menor potencial de producción (Dillon, 2006).

El incremento lineal en producción de leche observado en el presente trabajo fue similar al informado por Bargo *et al.* (2003) en vacas de alto potencial produciendo más de 28 kg día⁻¹ (desde 28,3 hasta 45,8 kg día⁻¹) suplementadas con niveles crecientes de concentrado en un rango de 1,8 a 10 kg MS día⁻¹. El nivel de producción promedio de las vacas utilizadas en los ensayos incluidos en el presente análisis se ubicó dentro del rango informado por Bargo *et al.* (2003).

Sin embargo, la respuesta marginal obtenida en el presente trabajo resultó inferior a la informada por estos autores, 0,774 vs 1,0 kg leche kg MS concentrado⁻¹, respectivamente. La inclusión de suplementos en la dieta de vacas lecheras, generalmente deprime el consumo de MS de pastura. Este fenómeno se denomina sustitución y es uno de los principales factores que afectan la respuesta productiva a la suplementación (Stockdale, 2000). Cuanto mayor es la disponibilidad de forraje, mayor es la tasa de sustitución (TS) y menor la respuesta marginal al uso de suplementos. Dillon (2006) reportó respuestas de 0,4 a 0,6 y de 0,92 kg leche kg MS concentrado⁻¹ para los trabajos publicados antes y después de 1990, respectivamente y atribuyó en parte este incremento en la respuesta marginal a una disminución en la TS promedio de 0,6 a 0,4 kg MS pastura kg MS concentrado⁻¹. La TS cercana a 0,6 kg MS pastura kg MS concentrado⁻¹ observada en los dos ensayos del presente trabajo de tesis podría haber contribuido a explicar la menor respuesta marginal obtenida con respecto a la informada por Bargo *et al.* (2003) en su trabajo de revisión.

En relación a la mejor combinación TMR-pastura durante otoño-invierno a utilizar en el cuarto ensayo, se planteó para el Ensayo 3 un contraste de interés. El mismo consistió en probar si existían diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento TMR 75 versus el resto de las combinaciones de TMR (25 y 50). En función de los resultados del mismo se demostró que existían diferencias con un nivel de significación de 5%, teniendo siempre este tratamiento producciones y rendimientos (sólidos) mayores que los otros probados. En función a este punto se planteó tomar como tratamiento a probar esta combinación TMR 75.

4.1. BIBLIOGRAFÍA

- ANTONACCI, L.; BARBERA, P.; GARCIARENA, D.A.; CANGIANO, C.A.; GAGLIOSTRO, G.A. 2009. Efecto de la suplementación con niveles crecientes de concentrado sobre la respuesta productiva de vacas lecheras en pastoreo. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 29 (supl. 1): 210-211.
- ARAUJO, L.E. 2013. Efecto de niveles crecientes de consumo de concentrado energético sobre la respuesta productiva y el ambiente ruminal de vacas lecheras en pastoreo. Tesis Magister Scientiae. Universidad nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias, Balcarce, Argentina. 92 pp.
- BARGO, F.; MULLER, L.D.; KOLVER, E.S.; DELAHOY, J.E. 2003. Invited review: production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. *J. Dairy Sci.* 86: 1–42.
- DILLON, P. 2006. Achieving high dry-matter intake from pasture with grazing dairy cows. In: Elgersma A., Dijkstra J.; Tamminga S. (eds.). *Fresh herbage for dairy cattle, the key to a sustainable food chain*, Wageningen UR Frontis Series Volume 18, Springer, Dordrecht, the Netherlands, pp. 1-26.
- FREUND, R.; LITTELL, R. 1981. *SAS® for linear models*. SAS Institute Inc. Cary, N.C., pp 187-193.
- KELLEYWAY, R.; PORTA, S. 1993. *Feeding concentrates supplements for dairy cows*. Dairy Research and Development Corporation, Melbourne, Australia. 171 p.
- PEYRAUD, J.L.; DELABY, L. 2001. Ideal concentrate feeds for grazing dairy cows responses to supplementation in interaction with grazing management and grass quality. In: Garnsworthy, P. C.; Wiseman, J. (eds.). *Recent Advances in Animal Nutrition*. Nottingham University Press, UK. pp.203-220
- STOCKDALE, C.R. 2000. Levels of pasture substitution when concentrates are fed to grazing dairy cows in northern Victoria. *Aust. J. Exp. Agr.* 40: 913–921.

5. ENSAYO 4

RESPUESTA PRODUCTIVA DE VACAS LECHERAS SOMETIDAS A DIFERENTES SISTEMAS DE ALIMENTACIÓN

RESUMEN

Cincuenta vacas Holando Argentino ($2,6 \pm 1,0$ lactancias) de parición otoñal produciendo $34,3 (\pm 4,4)$ kg leche con $586,6 (\pm 59,4)$ kg de peso vivo (PV) y con $52,6 (\pm 16,4)$ días de lactancia fueron asignadas aleatoriamente a uno de 2 tratamientos (sistemas de alimentación) en 10 grupos (corrales) de 5 animales cada uno (5 grupos/tratamiento) durante 27 semanas experimentales. El sistema confinado (TMR_100) representó una alimentación sin acceso a pastura y el sistema pastoril con suplementación estuvo definido por una ración parcialmente mezclada (PMR_75) constituida en base a materia seca (MS) por 75% TMR y 25% de pastura de avena (*Avena sativa* L.) durante el Período I (otoño-invierno) y pastura de alfalfa (*Medicago sativa* L.) + concentrado ($7,0 \text{ kg cab}^{-1} \text{ día}^{-1}$) durante el Período II (P+C) que tuvo lugar durante la primavera siguiente. La producción de leche fue medida en forma individual y diaria a lo largo del ensayo mientras que la composición química de la leche fue analizada en muestras individuales cada 2 semanas. El PV y la nota de condición corporal (CC, escala 1 a 5) fueron registrados cada 3 semanas luego del ordeño matinal. En forma simultánea se obtuvieron muestras de sangre para las determinaciones de glucosa, urea, ácidos grasos no esterificados (AGNE), insulina, somatotropina (GH) y somatomedina C (IGF-I). Se realizaron 4 determinaciones (método de la diferencia) de consumo de MS total por repetición en los meses de Julio, Agosto, Septiembre y Octubre. El rodeo fue inseminado a tiempo fijo al inicio del servicio (Mayo-Julio) y en el retorno con detección de celo. El diagnóstico de gestación se realizó por ultrasonografía transrectal a los 30 y 60 días de comenzado el servicio. Los datos productivos se analizaron según un modelo con observaciones repetidas en el tiempo ajustado por covariable con 2 períodos: otoño-invierno (Período I) y primavera (Período II) y con la vaca como unidad experimental. Los datos de consumo fueron analizados mediante un ANOVA para 2 tratamientos con 5 repeticiones. Las vacas del grupo TMR_100 produjeron ($P < 0,01$) más leche ($\text{kg vaca}^{-1} \text{ día}^{-1}$) durante el Período I ($33,7$ vs. $32,3$) y el Período II ($28,8$ vs. $27,8$). Las producciones ($\text{kg vaca}^{-1} \text{ día}^{-1}$) de grasa (Período I, $1,33$ vs.

1,24 y Período II, 1,10 vs. 0,92) y de proteína (1,19 vs. 1,13 y 0,99 vs. 0,93) también resultaron superiores ($P < 0,05$) en TMR_100. El menor consumo de energía de las vacas en pastoreo (45,0 vs. 43,1 y 40,9 vs. 38,9 Mcal vaca⁻¹ día⁻¹, para TMR_100 vs. PMR_75 y TMR_100 vs. P+C) combinado con el costo energético asociado a la actividad de pastoreo explicarían la diferencia en producción de leche. El contenido de proteína en leche (g kg⁻¹) resultó mayor ($P < 0,05$) en TMR_100 para los 2 períodos (35,3 vs. 34,7 y 34,2 vs. 33,1), mientras que el contenido de grasa (g kg⁻¹) resultó similar entre TMR_100 vs. PMR_75 (39,0) y menor ($P < 0,01$) en P+C (33,0) con respecto a TMR_100 (38,7). La mayor ganancia de PV (kg vaca⁻¹ día⁻¹) en las vacas del grupo TMR_100 en ambos períodos (0,69 vs. 0,34 y 0,49 vs. -0,22) resultó compatible con el incremento en los tenores plasmáticos de glucosa e IGF-I y la reducción en los niveles circulantes de GH, pero no con la ausencia de incrementos en la concentración plasmática de insulina o decrementos en los niveles circulantes de AGNE, parámetros que no fueron afectados por los tratamientos. A pesar de los efectos positivos de TMR_100 sobre los parámetros relacionados al balance energético, no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los indicadores reproductivos evaluados. La preñez final resultó de 80,0 y 91,3% para los sistemas confinado y pastoril con suplementación, respectivamente. Los litros libres de alimentación resultaron superiores en el sistema pastoril con suplementación con respecto al confinado (18,5 vs 15,5, respectivamente). Los resultados indican que el sistema pastoril con suplementación puede ser una alternativa económicamente competitiva comparada con el sistema confinado.

Palabras clave: producción de leche, reproducción, ración totalmente mezclada, ración parcialmente mezclada, pastura, concentrado.

ABSTRACT

Fifty Argentine Holsteins cows (2.6 ± 1.0 lactations) early autumn calving producing $34.3 (\pm 4.4)$ kg milk per cow.day⁻¹ with $586.6 (\pm 59.4)$ kg of live weight (LW) and with $52.7 (\pm 16.4)$ days in milk were randomly assigned for 27 weeks to one of two treatments (feeding systems) in 10 groups of 5 animals (pens) each (5 groups/treatment). The confined system (TMR_100) represented a diet without pasture whereas the pasture supplemented-system was defined by a partially mixed ration (PMR_75) comprised (DM basis) by 75% TMR and 25% of an oat pasture (*Avena sativa* L.) during Period I (autumn-winter) and alfalfa pasture (*Medicago sativa* L.) plus concentrate (7.0 kg per cow.day⁻¹) during Period II (P+C) in the next spring. Milk production was daily and individually recorded throughout the trial while chemical composition of milk was measured on individual samples every 2 weeks. LW and body condition score (BCC) using a scale of 1 to 5 were recorded every 3 weeks after the morning milking. Simultaneously, blood samples were taken for determinations of glucose, urea, non-esterified fatty acids (NEFA), insulin, somatotropin (GH) and somatomedin C (IGF-I). Four determinations of total DM intake were made per repetition in the months of July, August, September and October using the difference method. The experimental herd was inseminated at fixed time at the start of the service (May-July) and on the return with estrus detection. The diagnosis of pregnancy was made by transrectal ultrasonography at 30 and 60 days after the start of the service. The productive data were analyzed according to a model with repeated observations in time adjusted by covariate with 2 periods: autumn-winter (Period I) and spring (Period II) and using the animal as the experimental unit. Data of DM intake were analyzed using ANOVA for 2 treatments with 5 repetitions. The cows from the TMR_100 group produced more milk (kg cow⁻¹ day⁻¹) during Period I (33.7 vs. 32.3) and Period II (28.8 vs. 27.8). Yields were also higher in TMR_100 for milk fat (kg cow⁻¹ day⁻¹) in Periods I (1.33 vs. 1.24) and II (1.10 vs. 0.92) and for milk protein (1.19 vs. 1.13 and 0.99 vs. 0.93). The lower energy intake of grazing cows (45.0 vs. 43.1 and 40.9 vs. 38.9 Mcal per cow.day⁻¹ for TMR_100 vs. PMR_75 and TMR_100 vs. P+C) coupled to the extra energy cost associated with grazing activity would explain the difference in milk production. Milk protein content (g kg⁻¹) resulted higher in TMR_100 over the two experimental periods (35.3 vs. 34.7 and 34.2 vs. 33.1) while milk fat content (g kg⁻¹) was similar between TMR_100 vs. PMR_75 (39.0) but lower in P+C (33.0) compared to TMR_100 (38.7). The greatest LW gain (kg cow⁻¹ day⁻¹) in the cows of the TMR_100 group in both periods (0.69 vs. 0.34 and 0.49

vs. -0.22) was consistent with the increase in the plasmatic levels of glucose and IGF-I and the reduction in the circulating levels of GH, but not with the lack of increases in plasma insulin concentration or decreases in circulating levels of NEFA, parameters that were not affected the treatments. Despite the positive effects of TMR₁₀₀ on parameters linked to energy balance, no significant differences were detected in any of the reproductive parameters evaluated and the final rate of pregnancy was 80.0 and 91.3% for the confined and pasture supplemented systems respectively. Milk free liters over feed costs were higher in the pasture-supplemented system compared to the confined system (18.5 vs 15.5 l, respectively). The results indicate that the pasture-supplemented system can be economically competitive compared to the confined system of milk production.

Key words: milk production, reproduction, total mixed ration, partial mixed ration, pasture, concentrate.

5.1. INTRODUCCIÓN

La necesidad de liberar cierta cantidad de superficie de pastoreo para la agricultura generando sistemas mixtos sustentables requiere cierto grado de intensificación de los tambos (Ramírez *et al.*, 2007). Por esta razón, y aunque la información local acerca de los sistemas estabulados es escasa, el confinamiento de las vacas lecheras en nuestro país está recibiendo actualmente particular atención. Este contexto genera una demanda creciente de información sobre sistemas de alimentación intensificados, que incluyan estrategias de confinamiento parcial o completo en reemplazo del pastoreo.

Los sistemas de producción de leche tienden a la intensificación con distintas variantes. Una de ellas consiste en la estabulación completa y el reemplazo total del pastoreo por raciones equilibradas llamadas raciones totalmente mezcladas (TMR, por sus siglas en inglés). Entre las principales ventajas atribuidas a este sistema de alimentación, se destacan la de permitir la expresión del potencial de producción de leche en vacas de alto mérito genético. Como contrapartida, los costos de producción suelen ser más altos, principalmente en los rubros de alimentación y mano de obra, los cuales representan en conjunto más del 50% de los mismos (Short, 2004). Otra alternativa a la intensificación es la combinación de TMR y pastoreo, lo cual se conoce como raciones parcialmente mezcladas (PMR, por sus siglas en inglés) debido a que la pastura no constituye parte física de la TMR. Este sistema de alimentación semi-confinado permitiría obtener ventajas parciales de ambos sistemas (pastoril y confinado). El uso de la pastura reduciría la cantidad de TMR en la ración total y en consecuencia el costo de alimentación (Soriano *et al.*, 2001; White *et al.*, 2002; Fontaneli *et al.*, 2005) pudiendo mejorar la salud y el bienestar de los animales (Arnott *et al.*, 2017).

Si bien la Argentina no resulta ajena a la tendencia mundial de intensificación de los tambos (Gastaldi *et al.*, 2015), a nivel internacional existe un renovado interés en los sistemas pastoriles de producción de leche (White *et al.*, 2002; Fike *et al.*, 2003; Dillon *et al.*, 2005; Macdonald *et al.*, 2008; Baudracco *et al.*, 2010) que según Fontaneli *et al.* (2005) se explicaría por los menores gastos en alimentación, equipos e infraestructura, llevando potencialmente a un mayor ingreso/vaca; las mejoras observadas en salud animal y reproducción (menos descartes); la creciente presión de los organismos reguladores y los intereses ambientales para reducir la acumulación centralizada de residuos ganaderos y la

mejora en la calidad de vida de los actores del sistema (menos estrés, más tiempo libre, etc.).

La mayoría de los estudios comparando sistemas de alimentación evaluaron sistemas de TMR vs. pastura sin suplementación (Kolver y Muller, 1998; Kolver *et al.*, 2002; O'Neill *et al.*, 2011) o TMR vs. alguna combinación de pastura más concentrado (White *et al.*, 2002; Fontaneli *et al.*, 2005) o de pastura más TMR (Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002). Por otra parte, la información sobre la respuesta zootécnica esperable en sistemas de alimentación combinando distintas proporciones de TMR y pastura es escasa (Vibart *et al.*, 2008; Morales-Almaráz *et al.*, 2010; Fajardo *et al.*, 2015).

El análisis integral de la información disponible (punto 3.2.4.1 del presente trabajo de tesis) indica que la producción de leche y sólidos y el consumo de MS total incrementan linealmente con el nivel de inclusión de TMR en la dieta en reemplazo de pastura, mientras que no se observa ninguna asociación entre la eficiencia de conversión (EC) y el nivel de consumo de TMR. Esto sugiere que la diferencia en producción de leche a favor de las dietas con mayor proporción de TMR estaría asociada a un mayor consumo de MS.

Sin embargo, la mayoría de estos estudios han sido de corta duración. Pocos estudios comparativos de largo plazo o de lactancia completa han sido conducidos en el extranjero (White *et al.*, 2002; Fontaneli *et al.*, 2005) y ninguno en el país. Fontaneli *et al.* (2005) reportaron que la producción de leche de vacas confinadas consumiendo TMR resultó 19% superior (29,8 vs. 25,1 kg día⁻¹) con respecto a los grupos de vacas en pastoreo, pero los ingresos libres de gastos de alimentación resultaron similares para los 3 sistemas de manejo evaluados. Investigadores de la Universidad Estatal de Carolina del Norte (EEUU) reportaron que un sistema pastoril de producción de leche resultó competitivo en términos de rentabilidad (White *et al.*, 2002) y comportamiento reproductivo (Washburn *et al.*, 2002) comparado con un sistema confinado. El grupo de vacas en pastoreo suplementadas diariamente con un concentrado a base de maíz produjo menos leche (-11%) y tuvo menores notas de CC y PV que el grupo confinado consumiendo una TMR balanceada nutricionalmente, pero presentó un menor número de casos de mastitis clínica (Washburn *et al.*, 2002).

Por otro lado, a pesar de que se han publicado numerosos artículos sobre los factores que afectan el comportamiento reproductivo en rodeos lecheros, hay muy pocos comparando sistemas de producción (Mee, 2012). En consecuencia, se propuso la

realización de un ensayo de largo plazo comparando la mejor opción dietaria diferente a la TMR (definida en función de los resultados obtenidos en los ensayos 1, 2 y 3 del presente trabajo de tesis) vs. una dieta 100% TMR (control positivo). Cabe destacar que el trabajo no registra antecedentes en el país.

5.1.1. HIPÓTESIS

1. El sistema de alimentación de vacas lecheras de alto mérito genético basado en raciones totalmente mezcladas sin la utilización del pastoreo directo conducirá a una mayor producción de leche y sólidos útiles como consecuencia de un mayor consumo de materia seca total y de energía sin modificaciones en la eficiencia de conversión alimenticia.
2. En tal sistema, los parámetros asociados a la movilización de energía endógena serán atenuados con respecto a un sistema pastoril con suplementación.
3. El resultado económico del sistema confinado resultará el más favorable.

5.1.2. OBJETIVOS

- Evaluar los efectos de dos sistemas de alimentación, pastoril con suplementación vs. confinado, aplicados en dos estaciones del año sobre el consumo de materia seca y de energía, la producción y composición de la leche y los parámetros asociados a la movilización de energía endógena en vacas lecheras de alto mérito genético.
- Evaluar la viabilidad económica de los sistemas utilizando indicadores simples.
- Adicionalmente, se evaluará el comportamiento reproductivo de las vacas.

5.2. MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1. Lugar experimental y animales.

El ensayo se llevó a cabo en el Tambo Experimental de la EEA Rafaela del INTA (Lat. 31° 12' S Long. 61° 30' O Alt. 99 m) desde Mayo a Noviembre y constó de un período pre-experimental de 3 semanas (covariable) en el cual todas las vacas recibieron la dieta control (100% TMR) y de un período experimental de 27 semanas.

Se utilizaron 50 vacas de raza Holando Argentino de parición otoñal produciendo 34,3 (\pm 4,4) kg leche, con 2,6 (\pm 1,0) lactancias, 586,6 (\pm 59,4) kg PV y 52,6 (\pm 16,4) días de lactancia. Las mismas fueron ordenadas según nivel de producción, número de lactancias y días de ordeño y asignadas aleatoriamente a uno de 2 tratamientos (sistemas de alimentación) en 10 grupos (corrales) de 5 animales cada uno (5 grupos/tratamiento) en otoño-invierno (Período I) y la primavera subsiguiente (Período II).

Todas las vacas fueron equipadas con transpondedores en el cuello para registrar la producción individual y diaria de leche (ALPRO versión 6.60/ DeLaval, Tumba, Suecia).

5.2.2. Tratamientos.

Sistema confinado: 100% TMR sin acceso a pastura (**TMR_100**) en ambos períodos.

Sistema pastoril con suplementación: 75% TMR + 25% pastura de avena (*Avena sativa* L.) durante Período I (**PMR_75**) y pastura de alfalfa (*Medicago sativa* L.) + concentrado (7,0 kg cab⁻¹ día⁻¹) durante Período II (**P+C**). Este sistema de alimentación se definió en base a los resultados obtenidos en los ensayos previos realizados en el contexto del presente trabajo de tesis.

Las vacas en TMR_100 tuvieron acceso *ad libitum* a la ración. Para la formulación de la misma se utilizó el programa NRC dairy cattle (2001) y fue ajustada en función de los requerimientos al comienzo de la segunda mitad de la lactancia. La TMR de otoño-invierno estuvo compuesta (base MS) por ensilaje de maíz planta entera (32,6%), concentrado pelletizado (33,6%), grano de maíz molido (5,4%), harina de soja (7,9%), semilla de algodón (5,7%), poroto de soja (7,2%) y heno de alfalfa (7,6%). La TMR de primavera estuvo compuesta (base MS) por ensilaje de maíz planta entera (36,6%), concentrado pelletizado

(27,8%), grano de maíz molido (5,2%), harina de soja (7,5%), semilla de algodón (4,5%), poroto de soja (2,3%) y heno de alfalfa (16,1%). La ración fue preparada utilizando un equipo mezclador vertical (Mixer Juarez, Modelo 1400) y distribuida en dos ofertas diarias a las 6:00h y 16:00h: 50%/50% y 80%/20%, para TMR₁₀₀ y PMR₇₅, respectivamente. Para su suministro las vacas fueron alojadas en 2 pistas de alimentación con piso consolidado con suelo cal (dry-lot) divididas a su vez en 10 corrales de igual superficie (5/tratamiento) con disponibilidad de agua a voluntad. Las vacas del grupo PMR₇₅ permanecieron en el corral de alimentación hasta que finalizaron el consumo de la cantidad preestablecida de TMR y luego fueron conducidas a la parcela de pastoreo. Diariamente se pesó la TMR ofrecida en cada tratamiento y los rechazos se pesaron 3 veces/semana.

El consumo de MS potencial (CMSp, kg vaca⁻¹ día⁻¹) estimado durante la última semana del período pre-experimental se utilizó para definir la asignación de pastura (AP, kg MS vaca⁻¹ día⁻¹) de avena en un sistema de pastoreo rotativo en franjas diarias. El área de cada franja se calculó estimando la biomasa de forraje disponible previo al inicio del pastoreo y se reguló mediante la utilización de alambrado eléctrico con el objetivo de conseguir la AP deseada. Se fijó para el tratamiento PMR₇₅ una AP igual a 2 veces el consumo de MS esperado (Bargo *et al.*, 2003): $2 \times (\text{CMSp} \times 0,25)$, donde CMSp = $26,0 \pm 1,0$ kg MS vaca⁻¹ día⁻¹.

El concentrado experimental estuvo compuesto (base húmeda) por grano de maíz (68%), harina de soja (22%), afrechillo de trigo (8%) y núcleo vitamínico-mineral con monensina y la alfalfa fue utilizada en un sistema de pastoreo rotativo en franjas diarias con una AP de al menos 30 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹ (Romero *et al.*, 1995).

5.2.3. Mediciones.

5.2.3.1. Biomasa de forraje.

Semanalmente se estimó la disponibilidad forrajera (kg MS ha⁻¹) mediante cortes a ras del suelo con tijera manual en un área delimitada por un marco metálico de 0.125 m², cortando una superficie total de 1 m² en cada muestreo. La muestra total, compuesta por 8 submuestras de 0.125 m², fue secada en estufa a 65 °C durante 48 horas para determinar el contenido de MS de la misma. Sobre la base de esta estimación se fijó el área de las franjas diarias de pastoreo según la AP definida.

5.2.3.2. Composición química de los alimentos.

Cada 10 días se tomaron muestras representativas de la TMR, de los ingredientes que la componen, del concentrado experimental y de las pasturas (avena en otoño-invierno y alfalfa en primavera). Estas últimas se obtuvieron en el horizonte de pastoreo en forma manual simulando la selectividad de la vaca (hand-plucking) (Meijs et al., 1982). Todas las muestras fueron secadas en estufa con circulación de aire forzado a 65 °C hasta peso constante para determinar el contenido de MS y molidas en molino tipo Wiley (malla 1 mm). Se determinó el contenido de fibra detergente neutro (FDN; Komarek, 1993), fibra detergente ácido (FDA; AOAC, 1990, # 973.18), extracto etéreo (EE; AOAC, 1998, # 920.39), lignina detergente ácido (LDA; AOAC, 1990, # 973.18), nitrógeno total (método Kjeldhal, AOAC, 1998, # 976.05), proteína bruta (PB; nitrógeno total x 6,25), cenizas (AOAC, 1990, # 942.05) y digestibilidad in vitro de la MS (DIVMS; técnica de fermentación en dos etapas de Tilley y Terry, 1963). El contenido de energía metabolizable (EM) de los alimentos se estimó con la siguiente ecuación: $EM \text{ (Mcal kg MS}^{-1}\text{)} = 4,4 \text{ Mcal EB kg MS}^{-1} * 0,82 * \text{DIVMS}$ y el de energía neta de lactancia (ENL) se calculó como el 64% de la EM (NRC, 2001).

Las muestras de TMR fueron además tamizadas y separadas por tamaño usando el Separador de Partículas Penn State de dos tamices (19 y 8 mm) (Lammers *et al.*, 1996) obteniendo tres fracciones: partículas largas (>19 mm), partículas medianas (<19 mm y >8 mm) y partículas cortas (<8 mm). El contenido de FDN > 8 mm físicamente efectiva ($peNDF_{>8}$) se determinó como la proporción de partículas retenida en los tamices de 19 y 8 mm del Separador de Partículas Penn State, multiplicado por el contenido de FDN de la TMR (Zebeli *et al.*, 2010).

5.2.3.3. Producción y composición de leche.

La producción de leche fue medida en forma individual y diaria por un sistema de medición de leche DeLaval ALPRO (DeLaval Internacional AB, Tumba, Suecia). La producción de leche de la última semana del período pre-experimental fue utilizada como covariable.

La composición de la leche se evaluó a partir de muestras individuales colectadas cada 2 semanas. Se tomaron dos submuestras de leche a cada vaca en ordeños consecutivos

(mañana y tarde) utilizando medidores de leche (DeLaval Internacional AB, Tumba, Suecia), confeccionando luego una muestra única individual (pool) ponderada por la producción respectiva. En cada muestra compuesta se determinó el contenido de grasa butirosa, proteína total, lactosa, sólidos totales (ST), sólidos no grasos (SNG) y urea por espectrofotometría infrarroja (MilkoScan™ Minor; FOSS Electric, Hilleroed, Denmark) según norma ISO 9622 IDF 141 (2013). El contenido de caseína se calculó mediante la fórmula: $6,38 * (N \text{ total} - N \text{ no caseínico})$, previa digestión semi-Micro-Kjeldhal. La producción de leche fue ajustada a un contenido de 4% de grasa (LGC4%) por la fórmula de Gaines y Davidson (1923). La producción de leche corregida por energía (LEC) fue calculada según la fórmula de Tyrrel y Reid (1965). Durante la última semana del período pre-experimental se tomó una muestra de leche adicional (covariable).

5.2.3.4. Peso vivo y condición corporal.

Las vacas fueron pesadas individualmente con una balanza electrónica cada 3 semanas, luego del ordeño de la mañana e impidiéndoles el acceso al agua. La variación de PV entre dos pesadas sucesivas se calculó como la diferencia entre el peso final menos el peso inicial dividido por la cantidad de días transcurridos.

Junto con la pesada se determinó la nota de condición corporal por dos observadores independientes usando una escala de 5 puntos (1= excesivamente flaca y 5= excesivamente gorda) con incrementos de 0,25 (Wildman *et al.*, 1982) y el valor analizado fue el resultado promedio de ambos evaluadores.

5.2.3.5. Consumo de materia seca.

Se realizaron 4 determinaciones de consumo de MS total por repetición abarcando un período de 6 días consecutivos cada una, 2 en otoño-invierno (Julio, Agosto) y 2 en primavera (Septiembre, Octubre). El consumo de MS de TMR se determinó por la diferencia entre lo ofrecido y lo rechazado.

Para la medición de consumo de MS de pastura, cada repetición fue asignada a diferentes franjas de pastoreo. En cada parcela, el consumo de MS de pastura fue estimado por diferencia entre la disponibilidad de forraje pre- y post-pastoreo según la metodología descrita por Gallardo *et al.* (2005). La determinación del consumo de MS de pastura por diferencia entre la disponibilidad de forraje pre- y post-pastoreo ha sido comparada con

otras técnicas y validada por Macoon *et al.* (2003). La desaparición del forraje se midió dentro de un breve lapso de tiempo (24 h). Por lo tanto, no se consideró el crecimiento de la pastura durante la evaluación (Mannetje, 1978). Dentro de cada parcela se tomaron 10 muestras de pastura (pre- y post-pastoreo), a intervalos fijos, mediante cortes a nivel del suelo con tijera manual en un área delimitada por un marco metálico circular de 0.10 m². Para el muestreo, se extendió una transecta entre esquinas diagonalmente opuestas de la parcela. La transecta consistió en una cuerda marcada a intervalos de 5,5 m a lo largo de toda su longitud y se colocó sobre el área de muestreo inmediatamente antes de cada determinación (pre- y post-pastoreo). Cada medición de la disponibilidad forrajera se asignó aleatoriamente al lado izquierdo o derecho de la transecta. Es decir, si la disponibilidad forrajera pre-pastoreo se determinaba en el lado derecho, la disponibilidad post-pastoreo se medía en el lado izquierdo de la transecta. Las mediciones pre- y post-pastoreo se realizaron a la misma hora del día (11:00 h) en dos días consecutivos. Las muestras individuales fueron pesadas y secadas en estufa con circulación de aire forzado a 65 °C hasta peso constante para determinar el contenido de MS.

5.2.3.6. Concentración plasmática de metabolitos y hormonas.

Cada 3 semanas, luego del ordeño de la mañana, se tomaron muestras de sangre por punción de vena coccígea. La sangre fue colectada en tubos conteniendo heparina sódica (5 U/ml). El plasma se obtuvo por centrifugación (2000 × g por 15 min a 4°C) y se almacenó a -24°C hasta los análisis de glucosa (Glicemia enzimática, Laboratorio Wiener, Rosario, Argentina), urea (Uremia, Laboratorio Wiener, Rosario, Argentina), ácidos grasos no esterificados (AGNE) (NEFA, Randox Laboratories Ltd., UK), insulina, hormona de crecimiento (GH) y somatomedina C o factor de crecimiento tipo insulina (IGF-I) según se describe en Salado *et al.* (2004).

5.2.3.7. Comportamiento reproductivo.

El rodeo experimental fue inseminado a tiempo fijo (IATF) al inicio de la temporada de servicio (Mayo-Julio) y posteriormente, en el retorno, con detección de celo. El comportamiento reproductivo se evaluó mediante los siguientes indicadores: preñez IATF (%), preñez a los 42 días y 84 post-inicio servicio (%), preñez final (%), abortos (%) e intervalo parto-concepción (IPC, días). El diagnóstico de gestación se realizó a través de

ultrasonografía transrectal (ecógrafo Aquila, Pie Medical) con transductor lineal de 6 MHz, a los 30 y 60 días de comenzado el servicio.

5.2.3.8. Evaluación económica.

La evaluación económica de los sistemas de alimentación estudiados se realizó utilizando como indicador el ingreso libre del costo de alimentación, expresado en litros leche vaca⁻¹ día⁻¹ (Litros libres de alimentación). Este es un indicador comúnmente utilizado (White *et al.*, 2002), ya que incluye la fuente primaria de ingresos de una explotación lechera (venta de leche) y el principal componente del costo de producción (alimentación). Dicha evaluación se complementó con un análisis de sensibilidad ante variaciones en el precio de la leche (\$/litro entregado) y en los costos de alimentación (Tozer, Bargo y Muller, 2003).

5.2.4. Análisis estadísticos.

Las variables cuantitativas fueron analizadas según un diseño completamente aleatorizado con observaciones repetidas en el tiempo ajustado por covariable ($\alpha = 0,05$), considerando 2 períodos: otoño-invierno (Período I) y primavera (Período II) y usando al animal como unidad experimental. Se utilizó el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + W_j + A_{(i)k} + (TxW)_{ij} + Cov + E_{ijk}, \text{ donde:}$$

Y_{ijk} = variable dependiente, μ = media general, T_i = efecto tratamiento, W_j = efecto semana de muestreo, $A_{(i)k}$ = efecto aleatorio de animal dentro de tratamiento, $(T \times W)_{ij}$ = efecto de la interacción tratamiento x semana de muestreo, Cov = covariable y E_{ijk} = error residual.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS (2010).

Los datos referidos a consumo MS y eficiencia de conversión fueron sometidos a ANOVA para 2 tratamientos con 5 repeticiones (corrales), $\alpha = 0,05$.

Las variables cualitativas se analizaron mediante diferencia de proporciones (InfoStat 2011).

Se consideró tendencia $0,05 < P < 0,10$.

5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.3.1. Composición química de los alimentos.

Los valores promedio de composición química de las pasturas y de las TMR utilizadas en el ensayo se presentan en el Cuadro 28. La composición química del concentrado experimental fue $90,2 \pm 1,1$ % MS, $93,8 \pm 0,6$ % MO, $18,2 \pm 1,2$ % PB, $18,2 \pm 1,3$ % FDN, $6,3 \pm 0,5$ % FDA, $5,0 \pm 0,4$ % EE y $86,0 \pm 3,6$ % DIVMS. La biomasa aérea promedio de las pasturas de avena y de alfalfa fue 2366 ± 312 y 2074 ± 178 kg MS ha⁻¹, respectivamente.

Cuadro 28: Composición química de los alimentos utilizados¹

| Componentes | Avena | TMR Período I | Alfalfa | TMR Período II |
|------------------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| MS (%) | $18,3 \pm 1,5$ | $55,7 \pm 2,9$ | $22,1 \pm 1,5$ | $54,6 \pm 2,7$ |
| | % de la MS | | | |
| MO | $87,2 \pm 1,0$ | $93,1 \pm 0,5$ | $89,5 \pm 0,9$ | $92,8 \pm 0,5$ |
| DIVMS | $76,5 \pm 3,9$ | $74,0 \pm 3,9$ | $73,4 \pm 3,4$ | $73,0 \pm 3,5$ |
| PB | $21,0 \pm 1,8$ | $17,8 \pm 1,4$ | $24,7 \pm 1,8$ | $16,3 \pm 1,0$ |
| FDN | $44,3 \pm 3,7$ | $33,1 \pm 2,8$ | $38,0 \pm 3,2$ | $35,4 \pm 2,8$ |
| peNDF_{>8} | n.d. ² | $20,0 \pm 2,2$ | n.d. ² | $21,5 \pm 2,1$ |
| FDA | $21,1 \pm 1,6$ | $17,5 \pm 1,5$ | $21,0 \pm 1,7$ | $18,8 \pm 1,3$ |
| EE | $4,6 \pm 0,4$ | $5,5 \pm 0,4$ | $3,5 \pm 0,3$ | $4,9 \pm 0,4$ |

¹Valores expresados a través del promedio \pm el desvío estándar. ²n.d. = no determinado. MS = materia seca; MO = materia orgánica; DIVMS = digestibilidad *in vitro* de la MS; PB = proteína bruta; FDN = fibra detergente neutro; FDA = fibra detergente ácido; EE = extracto etéreo; peNDF_{>8} = FDN > 8 mm físicamente efectiva, medida como el contenido de FDN de la TMR multiplicado por el porcentaje de partículas retenido en los tamices de 19 y 8 mm del Separador de Partículas Penn State (Zebeli *et al.*, 2010).

El tenor de MS promedio de la pastura de avena (Cuadro 28) se ubicó muy próximo al límite superior del rango crítico (15-18%) que afectaría el consumo (Verité y Journet, 1970), mientras que el valor de digestibilidad promedio resultó elevado y el contenido promedio de PB se ubicó dentro del rango (150-250 g PB kg MS⁻¹) sugerido por Minson (1990) a los efectos de obtener elevados coeficientes de digestibilidad del forraje. A su vez, el contenido de FDN promedio de la avena estuvo muy por encima del rango de valores (34-36%) que permitiría maximizar el consumo de MS en vacas lecheras con un nivel de producción similar al registrado en el presente trabajo (Mertens, 1994). Estos resultados contribuirían

a explicar la disminución en el consumo de MS total ante el reemplazo de TMR por pastura en PMR_75 (Cuadro 30). Tomados en conjunto, los resultados indican una alta calidad aparente de la pastura de avena, siendo comparables a los informados por Quilaguy (2015) para una pastura similar. Sin embargo, los contenidos de MS y de FDN resultaron potencialmente limitantes del consumo.

Los parámetros de calidad de la alfalfa, en cambio, resultaron adecuados a fin de permitir elevados consumos de MS y muy cercanos a los valores promedio informados para pasturas de esta especie en estado de aprovechamiento óptimo en primavera por el laboratorio de evaluación de calidad de forrajes de la EEA Rafaela del INTA (Gaggiotti, 2008).

Los parámetros de calidad de las TMR utilizadas (Cuadro 28) se ubicaron dentro del rango de valores informados en otros estudios (Kolver y Muller, 1998; Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002; Vibart *et al.*, 2008; Fajardo *et al.*, 2015). Los contenidos de $\text{peNDF}_{>8}$ promedio de las TMR estuvieron por encima del valor mínimo requerido (18,5%) para prevenir el desarrollo de acidosis ruminal subaguda (Zebeli *et al.*, 2012).

5.3.2. Producción y composición de la leche.

En el Cuadro 29 se observa que la mayoría de las variables de producción y composición de leche analizadas resultaron significativamente mayores en TMR_100 para los dos períodos, excepto los tenores de grasa y ST durante el Período I y el contenido de SNG durante el Período I y II que resultaron similares entre tratamientos ($P > 0,05$). Se detectó una tendencia a un menor contenido de urea ($P = 0,09$) y un mayor contenido de caseína ($P = 0,08$) en TMR_100 con respecto a PMR_75 y P+C, respectivamente (Cuadro 29).

Las vacas del grupo TMR_100 produjeron 4,3% y 3,6% más leche con respecto a aquellas de los grupos PMR_75 y P+C, durante los Períodos I y II, respectivamente. Estudios previos mostraron resultados similares (Soriano *et al.*, 2001; Bargo *et al.*, 2002; White *et al.*, 2002).

Cuadro 29: Producción y composición de leche en vacas bajo dos sistemas de alimentación diferentes según períodos¹.

| Variable | Período I ² | | EEM | P < ⁴ | Período II ² | | EEM | P < ⁴ |
|------------------------------|---------------------------|--------|-------|------------------|---------------------------|-------|-------|------------------|
| | Tratamientos ³ | | | | Tratamientos ³ | | | |
| | TMR_100 | PMR_75 | | | TMR_100 | P+C | | |
| Leche, kg d ⁻¹ | 33,7 | 32,3 | 0,16 | 0,01 | 28,8 | 27,8 | 0,21 | 0,01 |
| LGC4%, kg d ⁻¹ | 33,4 | 31,6 | 0,32 | 0,01 | 28,3 | 25,1 | 0,28 | 0,01 |
| LEC, kg d ⁻¹ | 33,3 | 31,8 | 0,30 | 0,01 | 27,7 | 25,3 | 0,30 | 0,01 |
| Grasa, kg d ⁻¹ | 1,33 | 1,24 | 0,03 | 0,02 | 1,10 | 0,92 | 0,02 | 0,01 |
| Grasa, % | 3,95 | 3,84 | 0,08 | 0,25 | 3,87 | 3,30 | 0,07 | 0,01 |
| Proteína, kg d ⁻¹ | 1,19 | 1,13 | 0,02 | 0,02 | 0,99 | 0,93 | 0,02 | 0,01 |
| Proteína, % | 3,53 | 3,47 | 0,02 | 0,02 | 3,42 | 3,31 | 0,02 | 0,01 |
| Lactosa, % | 5,04 | 4,99 | 0,02 | 0,01 | 4,95 | 4,88 | 0,02 | 0,01 |
| ST, % | 13,12 | 13,02 | 0,09 | 0,38 | 12,86 | 12,20 | 0,08 | 0,01 |
| SNG, % | 9,28 | 9,25 | 0,02 | 0,41 | 9,11 | 9,04 | 0,03 | 0,14 |
| Urea, % | 0,045 | 0,047 | 0,001 | 0,09 | 0,036 | 0,054 | 0,001 | 0,01 |
| Caseína, % | 2,65 | 2,62 | 0,01 | 0,05 | 2,60 | 2,58 | 0,01 | 0,08 |
| RCS | 5,01 | 5,09 | 0,05 | 0,19 | 5,16 | 5,22 | 0,05 | 0,38 |

¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Período I = otoño-invierno; Período II = primavera. ³TMR_100 = ración totalmente mezclada; PMR_75 = ración parcialmente mezclada; P+C = pastura más concentrado. ⁴Efecto tratamiento. LGC4% = leche grasa corregida al 4%; LEC = leche energía corregida; ST = sólidos totales; SNG = sólidos no grasos; RCS = recuento células somáticas = log₁₀ RCS.

En un estudio de 6 semanas, Soriano *et al.* (2001) reportaron que la producción de leche (29,1 kg día⁻¹) de vacas confinadas consumiendo TMR fue significativamente mayor con respecto a vacas consumiendo pastura AM (24%) y TMR PM (76%) o pastura PM (34%) y TMR AM (66%), 27,6 y 28,2 kg leche día⁻¹, respectivamente. En un estudio de 4 años, White *et al.* (2002) evaluaron los efectos de dos sistemas de alimentación (confinado con TMR vs. pastoril con suplementación) sobre la respuesta productiva de vacas Holstein y Jersey y reportaron que las vacas del grupo pastoril con suplementación produjeron 11% menos leche/lactancia que las vacas alimentadas con TMR. Bargo *et al.* (2002) informaron que vacas (109 ± 39 días en lactancia) consumiendo TMR *ad libitum* produjeron 19% y 33% más leche que vacas consumiendo PMR (70% TMR y 30% pastura) y PC (60% pastura más 40% concentrado), respectivamente. Este resultado estaría explicado por diferencias

en el consumo de energía y por los mayores requerimientos de energía para mantenimiento relacionados con la actividad de pastoreo. Utilizando las ecuaciones desarrolladas por el NRC (2001), Bargo *et al.* (2002) estimaron que el costo energético de la actividad de pastoreo resultó equivalente al 64% y al 88% de la diferencia en producción de leche entre TMR vs. PMR y TMR vs. PC, respectivamente. En el presente estudio, asumiendo un contenido de 0,64 Mcal ENL/kg de leche puede estimarse (NRC, 2001) que el incremento en los requerimientos de energía para mantenimiento representaría potencialmente 0,43 y 0,87 kg de leche para las vacas en PMR_75 y P+C, respectivamente. La disminución observada en el consumo de energía (Cuadro 30) más el costo energético adicional asociado a la actividad de pastoreo podrían explicar la diferencia entre tratamientos en producción de leche (Cuadro 29). En tal sentido, Kolver y Muller (1998) indicaron que en vacas de alto mérito genético el 61% de la diferencia en producción de leche entre un sistema puramente pastoril y uno confinado con suministro de TMR se explicaría por el mayor consumo de MS de la TMR, mientras que la actividad de pastoreo y la eliminación del exceso de urea explicarían el 24% y el 12%, respectivamente. Recientemente, en línea con estos resultados, Fajardo *et al.* (2015) informaron que vacas en lactancia temprana consumiendo TMR *ad libitum* produjeron 10% más leche con respecto a vacas consumiendo TMR y pastura por 6 ó 9 horas/día (73% TMR:27% pastura y 66% TMR:34% pastura, respectivamente) y concluyeron que este resultado estaría explicado por las diferencias observadas en el consumo de MS total y en los requerimientos de EN mantenimiento entre las vacas confinadas y en pastoreo.

En el Período II la interacción tratamiento x semana resultó significativa ($P < 0,01$) para producción de leche (Figura 26). Durante las primeras 7 semanas del período la producción de leche resultó similar entre tratamientos mientras que a partir de la 8va semana (semana 22 del período experimental) resultó superior en TMR-100 con respecto a P+C.

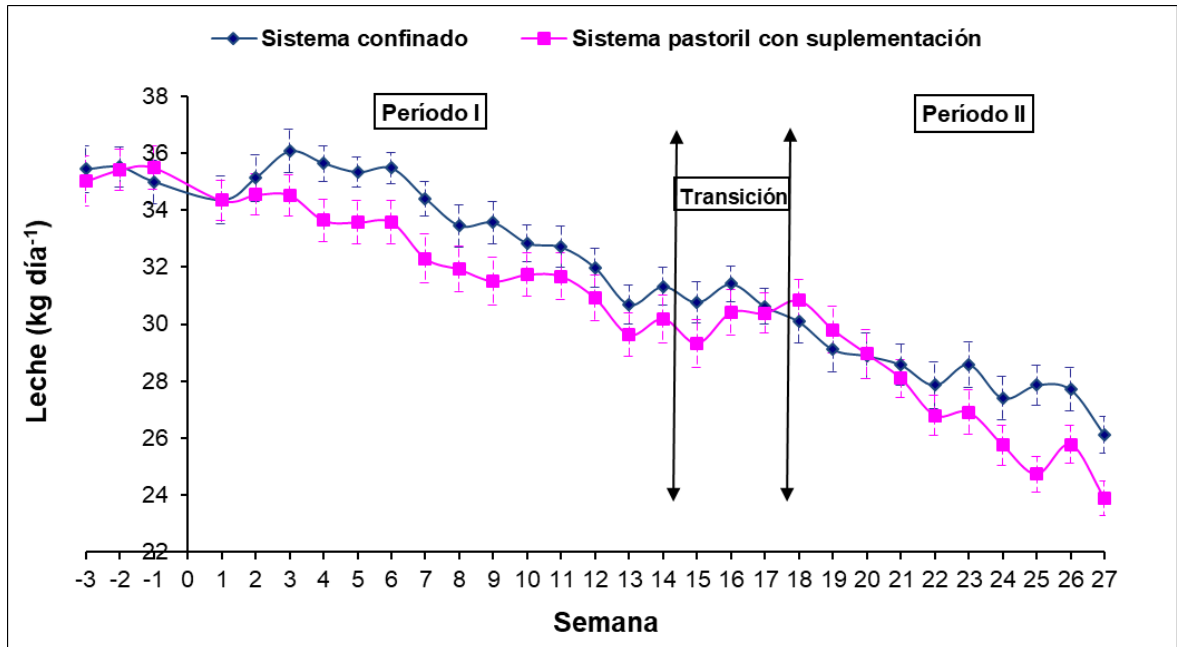


Figura 26: Evolución de la producción de leche en vacas bajo dos sistemas de alimentación diferentes.

En el presente estudio una disminución temporaria de la producción de leche en las vacas del grupo pastoril con suplementación hubiese sido esperable al cambiar de una alimentación con alto contenido de TMR (PMR_75) a P+C en primavera. En este sentido, Wu *et al.* (2001) observaron una rápida reducción en la producción de leche cuando las vacas pasaron de una alimentación con TMR a pastura más concentrado. Dichos autores reportaron una diferencia de 3,6 kg día⁻¹ en la producción de leche de vacas Holstein de parición otoñal pastoreando durante el verano subsiguiente y suplementadas con 6.2 kg MS día⁻¹ de concentrado con respecto a la producción de leche proyectada en el caso de que las vacas hubieran permanecido confinadas consumiendo TMR. Sin embargo, esta diferencia sería algo exagerada ya que no se tuvo en cuenta el efecto potencial del estrés por calor para la estimación de la producción de leche proyectada en condiciones de confinamiento. Por otro lado, Wu *et al.* (2001) utilizaron un breve período de transición (1 semana) para el cambio de TMR a pastura más concentrado. En este estudio, el período de transición de 3 semanas (Figura 26) utilizado para el cambio en la alimentación del grupo pastoril con suplementación durante la primavera contribuiría a explicar la ausencia de diferencias en producción de leche entre TMR_100 y P+C durante las primeras semanas del Período II.

Puesto que la concentración de grasa no fue afectada por los tratamientos durante el Período I, la mayor producción de grasa en TMR_100 se explicaría por la mayor producción de leche observada en dicho tratamiento (Cuadro 29). Coincidentemente, Bargo *et al.* (2002) reportaron que el tenor de grasa (3,30 vs. 3,35%) no difirió, pero la producción de grasa (1,24 vs. 1,06 kg día⁻¹) resultó mayor en vacas alimentadas con TMR con respecto a PMR (70% TMR + 30% pastura), respectivamente. En el Período II, tanto el contenido como la producción de grasa resultaron significativamente mayores en TMR_100 con respecto a P+C (Cuadro 29). En línea con estos resultados, Bargo *et al.* (2002) informaron un mayor contenido y producción de grasa en vacas consumiendo TMR con respecto a PC (60% pastura + 40% concentrado) y atribuyeron la menor concentración de grasa láctea en el tratamiento PC al consumo de fibra altamente digestible proveniente de la pastura en combinación con el suministro de concentrado separado del forraje dos veces por día durante cada turno de ordeño. En el presente experimento, el concentrado formó parte de la ración en TMR_100 minimizando la selectividad y el contenido promedio de peNDF₈ de la TMR (21,5 ± 2,1) se ubicó por encima del valor mínimo sugerido por Zebeli *et al.* (2012) para prevenir el desarrollo de acidosis ruminal subaguda, lo cual contribuiría a explicar los resultados obtenidos.

La concentración y producción de proteína láctea resultaron significativamente mayores en TMR_100 (Cuadro 29) para los 2 períodos, resultado que estaría explicado por el mayor consumo de energía observado en dicho tratamiento (Cuadro 30). Coincidentemente, Bargo *et al.* (2002) reportaron que vacas alimentadas con TMR produjeron la mayor cantidad de proteína láctea (1,13 vs. 0,93 vs. 0,79 kg día⁻¹) con respecto a PMR (70% TMR + 30% pastura) y PC (60% pastura + 40% concentrado), respectivamente, asociado a un mayor consumo de EN_L (43,7 40,2 y 35,3 Mcal día⁻¹, para TMR, PMR y PC, respectivamente).

El contenido de lactosa resultó mayor en TMR_100 para los dos períodos (Cuadro 29) sugiriendo una mayor disponibilidad de glucosa a nivel mamario, resultado compatible con la mayor producción de leche obtenida en dicho tratamiento. A su vez, el tenor de caseína resultó mayor, mientras que el contenido de urea en leche resultó menor en TMR_100, sugiriendo un mejor balance energía-proteína a nivel ruminal.

El recuento de células somáticas, considerado un indicador de mastitis subclínica, no fue afectado por los tratamientos (Cuadro 29). Este resultado está en sintonía con lo informado por otros autores (Kolver y Muller, 1998; Bargo *et al.*, 2002; AbuGhazaleh *et al.*, 2007)

quienes no detectaron diferencias significativas entre sistemas pastoriles vs. confinados. Green, Schukken y Green (2006) encontraron evidencia de un efecto de dilución del recuento de células somáticas en vacas de alta producción sin inflamación intramamaria. Puesto que en TMR_100 las vacas produjeron más leche (Cuadro 29), diferencias reales en el recuento de células somáticas podrían en parte estar enmascaradas por un efecto de dilución.

5.3.3. Consumo de MS y energía.

El consumo de MS total resultó significativamente mayor en TMR_100 con respecto a PMR_75 y P+C (Cuadro 30), en línea con lo informado por estudios similares (Bargo *et al.*, 2002; Vibart *et al.*, 2008; Fajardo *et al.*, 2015).

Cuadro 30: Consumo de MS, EN_L y eficiencia de conversión (EC) en vacas bajo dos sistemas de alimentación diferentes según periodos¹.

| Variable | Período I ² | | EEM | P < ⁴ | Período II ² | | EEM | P < ⁴ |
|---|---------------------------|--------|------|------------------|---------------------------|------|------|------------------|
| | Tratamientos ³ | | | | Tratamientos ³ | | | |
| | TMR_100 | PMR_75 | | | TMR_100 | P+C | | |
| MS, kg día ⁻¹ | | | | | | | | |
| TMR | 26,3 | 19,2 | 0,18 | 0,01 | 24,2 | - | | |
| Avena | - | 5,8 | | | - | - | | |
| Alfalfa | - | - | | | - | 15,6 | | |
| Total | 26,3 | 25,0 | 0,33 | 0,01 | 24,2 | 21,9 | 0,30 | 0,01 |
| EN _L ⁵ , Mcal día ⁻¹ | | | | | | | | |
| TMR | 45,0 | 32,8 | 0,30 | 0,01 | 40,9 | - | | |
| Avena | - | 10,3 | | | - | - | | |
| Alfalfa | - | - | | | - | 26,4 | | |
| Total | 45,0 | 43,1 | 0,58 | 0,02 | 40,9 | 38,9 | 0,50 | 0,01 |
| EC | | | | | | | | |
| Leche kg MS ⁻¹ | 1,28 | 1,29 | 0,03 | 0,86 | 1,19 | 1,27 | 0,03 | 0,06 |
| LEC kg MS ⁻¹ | 1,27 | 1,28 | 0,02 | 0,81 | 1,17 | 1,17 | 0,02 | 0,97 |

¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMeans (EEM). ²Período I = otoño-invierno; Período II = primavera. ³TMR_100 = ración totalmente mezclada; PMR_75 = ración parcialmente mezclada; P+C = pastura más concentrado. ⁴Efecto tratamiento. ⁵Valores de EN_L para TMR Período I, TMR Período II, avena y alfalfa: 1,71, 1,69, 1,77 y 1,69 Mcal kg MS⁻¹, respectivamente. LEC = leche energía corregida.

En el Período I, el consumo de MS total disminuyó ante el reemplazo de TMR por forraje fresco en pastoreo, de modo que la relación TMR:pastura real obtenida en PMR_75 fue levemente diferente a la pre-planeada, resultando de 77:23. Este resultado está en sintonía con el reportado por Vibart *et al.* (2008) en un ensayo en el que se evaluaron distintas combinaciones de TMR y pastura (raigrás anual). Los autores postularon que la reducción en el consumo de MS total en los grupos de vacas consumiendo PMR con respecto al grupo alimentado *ad libitum* con TMR podría explicarse por restricciones en el tiempo de pastoreo y alteraciones en los patrones de pastoreo diarios impuestas por los horarios de encierro de las vacas, afectando el consumo de MS de pastura. Los efectos de diferentes horarios de pastoreo y tiempos de acceso a la parcela fueron probados por Fajardo *et al.* (2015) comparando una o dos sesiones de pastoreo cuando suministraron una PMR compuesta por 50% de pastura y 50% de TMR. Las vacas del grupo con mayor tiempo de acceso a la pastura (6 h post-ordeño AM y 3 horas post-ordeño PM) pastorearon 50 minutos más con respecto al grupo con acceso restringido (6 h post-ordeño AM) logrando un mayor consumo de MS de pastura. En este estudio, deficiencias cualitativas en la calidad de la avena (déficit de MS, exceso de FDN) sumados a potenciales factores de comportamiento animal podrían haber afectado el consumo de MS de pastura y por ende de MS total en PMR_75. A su vez, el consumo de MS total en el grupo P+C (Cuadro 30) resultó similar al informado por Bargo *et al.* (2002) en vacas alimentadas con 60% pastura + 40% concentrado (21,6 kg MS día⁻¹) y se ubicó dentro del rango de valores (20,9-22,5 kg MS día⁻¹) obtenido en el 1° y 2° ensayo del presente trabajo de tesis en un tratamiento similar.

El consumo de EN_L total resultó mayor en TMR_100 con respecto a PMR_75 y P+C (Cuadro 30) y estaría explicado por un mayor consumo de MS total, ya que el contenido de ENL estimado resultó superior en PMR_75 (1,72 Mcal kg MS⁻¹) y P+C (1,78 Mcal kg MS⁻¹) con respecto a TMR_100 (1,70 Mcal kg MS⁻¹).

La EC (kg Leche kg MS⁻¹) resultó similar entre TMR_100 y PMR_75, pero tendió ($P = 0,06$) a ser mayor en P+C con respecto a TMR_100. La pérdida de PV observada en las vacas del tratamiento P+C (Cuadro 31) estaría indicando movilización endógena de energía para sostener la producción de leche y contribuiría a explicar este resultado.

5.3.4. Variación de peso vivo y condición corporal y concentración plasmática de metabolitos y hormonas.

El tratamiento TMR_100 incrementó la variación de PV y de CC (Cuadro 31), resultado compatible con el mayor consumo estimado de EN_L (Cuadro 30), sin efectos significativos sobre los niveles circulantes de AGNE, parámetro indicador de lipomovilización. Estos resultados sugieren que los animales del grupo TMR_100 no utilizaron toda la energía adicional consumida para aumentar la producción de leche, sino que una parte fue derivada a la reconstitución de reservas corporales. Por otro lado y como ya fue comentado, la pérdida de PV registrada en las vacas del grupo P+C (-0,22 kg día⁻¹), estaría indicando que parte de la producción de leche se obtuvo a expensas de movilización de energía endógena como lo han sugerido Fontaneli *et al.* (2005), aún en vacas en lactancia media.

Cuadro 31: Variación (Δ) de peso vivo (PV) y condición corporal (CC) y concentración plasmática de metabolitos y hormonas en vacas bajo dos sistemas de alimentación diferentes según períodos¹.

| Variable | Período I ² | | EEM | P < ⁴ | Período II ² | | EEM | P < ⁴ |
|-----------------------------------|---------------------------|--------|------|------------------|---------------------------|-------|------|------------------|
| | Tratamientos ³ | | | | Tratamientos ³ | | | |
| | TMR_100 | PMR_75 | | | TMR_100 | P+C | | |
| PV, kg | 631,5 | 607,6 | 3,47 | 0,01 | 672,0 | 618,1 | 4,68 | 0,01 |
| Δ PV, kg día ⁻¹ | 0,69 | 0,34 | 0,09 | 0,01 | 0,49 | -0,22 | 0,06 | 0,01 |
| CC | 2,77 | 2,67 | 0,04 | 0,03 | 3,25 | 2,97 | 0,06 | 0,01 |
| Δ CC | 0,08 | 0,02 | 0,01 | 0,11 | 0,12 | 0,03 | 0,01 | 0,01 |
| Glucosa, mmol L ⁻¹ | 3,73 | 3,61 | 0,03 | 0,02 | 3,65 | 3,36 | 0,03 | 0,01 |
| Urea, mmol L ⁻¹ | 7,51 | 7,38 | 0,11 | 0,40 | 6,59 | 8,72 | 0,13 | 0,01 |
| AGNE, μ Eq L ⁻¹ | 159,1 | 168,8 | 7,3 | 0,34 | 125,5 | 140,1 | 7,7 | 0,20 |
| GH, ng ml ⁻¹ | 2,82 | 3,52 | 0,23 | 0,02 | 2,85 | 3,26 | 0,17 | 0,09 |
| Insulina, ng ml ⁻¹ | 0,54 | 0,55 | 0,03 | 0,79 | 0,50 | 0,48 | 0,03 | 0,56 |
| IGF-I, ng ml ⁻¹ | 171,8 | 155,6 | 10,8 | 0,30 | 133,2 | 119,6 | 5,6 | 0,09 |
| GH/Insulina | 6,75 | 7,22 | 0,75 | 0,66 | 6,83 | 7,70 | 0,59 | 0,30 |

¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMean (EEM). ²Período I = otoño-invierno; Período II = primavera. ³TMR_100 = ración totalmente mezclada; PMR_75 = ración parcialmente mezclada; P+C = pastura más concentrado. ⁴Efecto tratamiento. AGNE = ácidos grasos no esterificados; GH = somatotropina; IGF-I = somatomedina C.

Diversos estudios comparando sistemas de alimentación confinados con suministro de TMR vs. pastoriles (con y sin suplementación) reportaron un efecto negativo de los sistemas basados en pasturas sobre el balance energético de vacas lecheras de alta producción, asociado a un menor consumo de MS y energía lo que genera pérdidas de PV y CC (Kolver y Muller, 1998; Tucker, Rude y Wittayakun, 2001; Bargo *et al.* 2002; Washburn *et al.*, 2002; Fontaneli *et al.*, 2005). Las vacas alimentadas con TMR *ad libitum* suelen mantener su PV y CC (Kolver y Muller, 1998) o bien experimentan mejoras en estos parámetros (Tucker *et al.*, 2001; Bargo *et al.* 2002) mientras que las vacas de alto mérito genético que consumen sólo pastura movilizan sus reservas corporales con importantes pérdidas de estado corporal (Kolver y Muller, 1998).

La uremia (Cuadro 31) resultó significativamente mayor en P+C con respecto a TMR_100, resultado consistente con los mayores valores de urea en leche observados en dicho tratamiento (Cuadro 29). En línea con estos resultados, Bargo *et al.* (2002) reportaron mayores concentraciones plasmáticas de nitrógeno ureico en vacas alimentadas con 60% pastura + 40% concentrado con respecto al grupo consumiendo TMR. La urea plasmática es un indicador sensible de la ingesta de proteína cruda y su sincronismo con la liberación de energía en el rumen, ya que sus concentraciones son dependientes de la producción y absorción del amonio ruminal (Noro *et al.*, 2006). En este estudio, el consumo de PB total resultó significativamente mayor ($P < 0,01$) en P+C con respecto a TMR_100 (5,0 vs. 3,9 kg día⁻¹), lo cual contribuiría a explicar la mayor concentración plasmática de urea en el grupo P+C.

Los metabolitos plasmáticos como los AGNE y la glucosa y las hormonas reguladoras como la insulina, la GH y el IGF-I actúan como indicadores dinámicos o a corto plazo del balance energético (Cissé *et al.*, 1991; Chilliard, Bocquier y Doreau, 1998). El balance energético negativo genera una disminución en la concentración de glucosa, insulina e IGF-I y un aumento en los niveles circulantes de AGNE y GH (Grummer, 1995; Van Kneegsel *et al.*, 2007). En el presente ensayo, la concentración plasmática de glucosa resultó significativamente mayor en TMR_100. Este aumento no fue acompañado por un incremento en los tenores de insulina, pero resultó compatible con el mayor consumo estimado de EN_L (Cuadro 30) y con el mayor contenido de lactosa (Cuadro 29) observado en dicho tratamiento. A su vez, los niveles circulantes de glucosa en los dos grupos se mantuvieron dentro de los rangos de referencia (2,5 a 4,16 mmol L⁻¹), concordante con los

antecedentes que indican que la glucemia de los bovinos se mantiene dentro de los rangos fisiológicos, producto del fuerte mecanismo de control homeostático hormonal (Noro *et al.*, 2006).

Se detectó una tendencia ($P = 0,09$) a una reducción en la concentración plasmática de IGF-I y un aumento en los niveles circulantes de GH en P+C con respecto a TMR_100, resultado compatible con la disminución en el consumo de EN_L (Cuadro 30). En línea con estos resultados, McGuire *et al.* (1995) informaron que vacas en lactancia media sometidas a una restricción alimenticia duplicaron la concentración plasmática de GH y redujeron los niveles circulantes de IGF-I en aproximadamente un 50%. La disminución del número de receptores de GH en el tejido hepático durante periodos de balance energético negativo (Breier, Gluckman y Bass, 1988) contribuiría a explicar el aumento de la concentración plasmática de GH y la reducción de la producción hepática de IGF-I observados.

5.3.5. Comportamiento reproductivo.

A pesar de los efectos positivos de TMR_100 sobre parámetros relacionados con el balance energético, los indicadores reproductivos evaluados resultaron similares entre tratamientos (Cuadro 32).

Cuadro 32: Comportamiento reproductivo en vacas bajo dos sistemas de alimentación diferentes.

| Indicador | Sistema confinado | Sistema pastoril con suplementación | $P <$ |
|--|-------------------|-------------------------------------|-------|
| Partos asistidos, % (n) | 12,0 (3/25) | 21,7 (5/23) | 0,45 |
| Puerperio patológico, % (n) | 0,0 (0/25) | 13,0 (3/23) | 0,10 |
| IA ¹ 21 días, % (n) | 68,0 (17/25) | 73,9 (17/23) | 0,76 |
| IATF ² , % (n) | 32,0 (8/25) | 26,1 (6/23) | 0,76 |
| Preñez 42 días, % (n) | 48,0 (12/25) | 52,2 (12/23) | 0,78 |
| Preñez 84 días, % (n) | 64,0 (16/25) | 65,2 (15/23) | 1,00 |
| Preñez final, % (n) | 80,0 (20/25) | 91,3 (21/23) | 0,42 |
| Abortos, % (n) | 15,0 (3/20) | 14,3 (3/21) | 1,00 |
| IPC ³ , días (\pm desvío std.) | 132 (\pm 86) | 144 (\pm 95) | 0,65 |

¹IA 21 días = vacas inseminadas los primeros 21 días de servicio. ²IATF = vacas inseminadas a tiempo fijo. ³IPC = intervalo parto-concepción.

Estos resultados coinciden con los informados en estudios previos (Washburn *et al.*, 2002; Pedernera *et al.*, 2008). Washburn *et al.* (2002) evaluaron los efectos de dos sistemas de alimentación (pastoril con suplementación vs. confinado con TMR) sobre la respuesta productiva y el desempeño reproductivo de vacas lecheras, en un estudio de 4 años involucrando 282 vacas Holstein y 222 Jersey. En dicho estudio, las vacas en condiciones de pastoreo tuvieron menores notas de CC y PV que las confinadas, sin embargo, el comportamiento reproductivo no difirió significativamente entre sistemas de alimentación, con porcentajes de preñez promedio en 75 días de servicio de 64,2% y 71,7% para los grupos confinado y en pastoreo, respectivamente. A su vez, Pedernera *et al.* (2008) estudiaron el balance de energía, los cambios metabólicos y el comportamiento reproductivo de 78 vacas Holstein sometidas a 2 regímenes de alimentación (predominantemente pastoril vs. PMR compuesta por 79% TMR y 21% pastura) durante las primeras 9 semanas de lactancia e informaron que a pesar de la mejora en el balance energético y la reducción en la movilización de reservas corporales registradas en las vacas alimentadas con PMR, el comportamiento reproductivo no fue afectado por los tratamientos, con tasas de preñez en 84 días de servicio de 72,1% y 77,1% ($P > 0,05$) para los grupos PMR y pastoril, respectivamente. En sintonía con estos estudios, Ferris *et al.* (2002) tampoco encontraron ningún efecto sobre la fertilidad cuando vacas multíparas ($n = 39$) de alto mérito genético en lactancia temprana fueron alimentadas con una dieta basada en ensilaje de pastura y suplementadas con dos niveles de concentrado. El incremento del nivel de suplementación (hasta 14,0 kg de concentrado vaca⁻¹ día⁻¹) redujo la pérdida de condición corporal y disminuyó la extensión y el grado de BEN en comparación con las vacas suplementadas con 5,5 kg de concentrado. Asimismo, un estudio de 17 rodeos lecheros representativos del Estado de Virginia (EEUU) incluyendo diversos sistemas de alojamiento y alimentación (confinados y pastoriles) no encontró relación entre la tasa de concepción y el sistema de producción (Dransfield *et al.*, 1998). Coincidentemente, una evaluación de riesgo semi-cuantitativa llevada a cabo por el Panel Europeo de Sanidad Animal y Bienestar Animal concluyó que el riesgo de sufrir trastornos reproductivos o metabólicos es independiente del sistema de producción (EFSA, 2009).

Sin embargo, es importante remarcar que el número de vacas utilizado en el presente estudio para evaluar la respuesta reproductiva podría resultar insuficiente para detectar efectos significativos.

5.3.6. Evaluación económica.

A pesar de los mayores ingresos (+4,0%) del sistema confinado con respecto al sistema pastoril con suplementación, los litros libres de alimentación resultaron inferiores (-16,2%), debido a los mayores costos (+36,9%) de alimentación (Cuadro 33).

Cuadro 33: Evaluación económica de dos sistemas de alimentación diferentes según períodos.

| Variable | Período I ¹ | | Período II ¹ | | Período total | |
|---|---------------------------|--------|---------------------------|-------|---------------------------|-------|
| | Tratamientos ² | | Tratamientos ² | | Tratamientos ² | |
| | TMR_100 | PMR_75 | TMR_100 | P+C | SC | SPS |
| Ingresos leche (\$ VO ⁻¹ día ⁻¹) ³ | 404,4 | 387,6 | 345,6 | 333,6 | 376,4 | 361,9 |
| Costo ración (\$ VO ⁻¹ día ⁻¹) ⁴ | 173,6 | 148,8 | 143,3 | 102,9 | 159,2 | 127,0 |
| Costo suministro (\$ VO ⁻¹ día ⁻¹) ⁵ | 31,7 | 23,7 | 31,7 | 0,0 | 31,7 | 12,4 |
| Ingresos libres alimentación (%) | 49,2 | 55,5 | 49,4 | 69,2 | 49,3 | 61,5 |
| Litros libres alimentación | 16,6 | 17,9 | 14,2 | 19,2 | 15,5 | 18,5 |

¹Período I = otoño-invierno; Período II = primavera. ²TMR_100 = ración totalmente mezclada; PMR_75 = ración parcialmente mezclada; P+C = pastura más concentrado; SC = sistema confinado; SPS = sistema pastoril con suplementación. ³Precio del litro de leche: \$12,0/litro entregado. ⁴Precios a Marzo de 2019. ⁵Incluye costo de mantenimiento de corrales. VO = vaca ordeño; Valor U\$S = \$41,36.

Estos resultados coinciden con los de la bibliografía internacional que indica que el retorno económico de los sistemas basados en pasturas resultó mayor (Soriano *et al.*, 2001; Tucker *et al.*, 2001; White *et al.*, 2002) o igual (Fontaneli *et al.*, 2005) con respecto al de los tradicionales sistemas confinados basados en TMR. Elbehri y Ford (1995), citados por Tozer *et al.* (2003), informaron que los sistemas con pastoreo intensivo serían más rentables que los sistemas confinados basados en TMR, siempre que la producción de leche de los primeros sea hasta un 6% inferior con respecto a la del rodeo confinado. En el presente trabajo, la diferencia en producción de leche a favor del sistema confinado estuvo dentro del rango informado por estos autores y fue de 4,3% (31,5 vs. 30,2 kg día⁻¹).

Sólo en uno de los trabajos revisados (Tozer *et al.*, 2003), el ingreso neto del sistema confinado para vacas de alto mérito genético (45 kg leche día⁻¹) resultó superior a pesar de presentar los mayores costos de producción. Sin embargo, el análisis de sensibilidad de los resultados mostró que en escenarios de bajo precio de la leche y de alto costo del alimento (situaciones no poco frecuentes en nuestro país) el sistema pastoril con suplementación resultó más rentable que el confinado. El análisis de sensibilidad realizado en este estudio (Cuadro 34) mostró que los litros libres de alimentación resultaron superiores en el sistema pastoril con suplementación para todos los escenarios planteados, acentuándose las diferencias con respecto al sistema confinado en situaciones de bajos precios de la leche y altos costos de alimentación.

Cuadro 34: Litros libres de alimentación en función de cambios en el precio de la leche y/o en los costos de alimentación de dos sistemas de alimentación diferentes según periodos.

| Variable | Período I ¹ | | Período II ¹ | | Período total | |
|---|---------------------------|--------|---------------------------|-------|---------------------------|-------|
| | Tratamientos ² | | Tratamientos ² | | Tratamientos ² | |
| | TMR_100 | PMR_75 | TMR_100 | P+C | SC | SPS |
| +20% precio leche, costos sin variación | 18,46 | 19,38 | 15,81 | 19,84 | 17,20 | 19,60 |
| +10% precio leche, costos sin variación | 17,16 | 18,29 | 14,71 | 19,20 | 15,99 | 18,72 |
| +10% costos, precio leche sin variación | 13,90 | 15,54 | 11,92 | 17,56 | 12,96 | 16,50 |
| +20% costos, precio leche sin variación | 12,19 | 14,10 | 10,47 | 16,70 | 11,37 | 15,34 |
| -10% precio leche, +10% costos | 11,81 | 13,78 | 10,14 | 16,51 | 11,01 | 15,08 |
| -20% precio leche, +10% costos | 9,19 | 11,59 | 7,92 | 15,20 | 8,59 | 13,31 |
| -20% precio leche, +20% costos | 7,06 | 9,79 | 6,09 | 14,13 | 6,60 | 11,85 |

¹Período I = otoño-invierno; Período II = primavera. ²TMR_100 = ración totalmente mezclada; PMR_75 = ración parcialmente mezclada; P+C = pastura más concentrado; SC = sistema confinado; SPS = sistema pastoril con suplementación. Precio del litro de leche: \$12,0/litro entregado y costos de alimentación a Marzo de 2019.

Finalmente, vale aclarar que pese al alto peso relativo de la alimentación en los costos, para comparar la rentabilidad de los sistemas se deberían considerar además otros costos

de producción (mano de obra, sanidad, reposición, manejo de efluentes), los cuáles según indica la bibliografía internacional son significativamente menores en los sistemas pastoriles, haciéndolos económicamente competitivos con respecto a los sistemas confinados, aunque en estos últimos la necesidad de tierra para producción de forraje puede ser menor (White *et al.*, 2002). Por otro lado, hay que tener en cuenta que para el confinamiento total de las vacas se requiere una elevada inversión en instalaciones (*dry-lot* o *free-stall*), mientras que para un confinamiento parcial combinado con pastoreo sólo se requeriría una pista de alimentación (*feed-pad*) definida como un área de superficie dura diseñada únicamente para alimentación.

5.4. CONCLUSIONES

En las condiciones del presente trabajo, la mejora de los parámetros productivos inducida por una alimentación controlada y totalmente estabulada más los ahorros en el costo energético asociado a la actividad de pastoreo no resultaron lo suficientemente importantes como para contrarrestar los mayores costos de alimentación a igual valor del litro de leche producida calculado en ausencia de bonificaciones por tenor proteico o caseínico de la leche. Potenciales ventajas económicas del sistema estabulado emergentes de una mejor respuesta reproductiva o salud metabólica del rodeo tampoco pueden ser invocadas. La participación de pastura en la PMR del sistema otoño-invernal (25% del consumo de MS) parece haber sido insuficiente a fines de inducir un importante déficit en el consumo de MS y energía capaz de afectar la respuesta productiva y reproductiva. Una mayor participación de pastura podría haber acentuado las diferencias entre sistemas en producción primaria, estado corporal de vacas de alto mérito genético y en respuesta reproductiva induciendo efectos residuales negativos en la primavera subsiguiente con mayores implicancias económicas y fisiológicas, aspectos que merecen explorarse en futuros trabajos. Como consecuencia y pese a los mayores ingresos del sistema confinado, los litros libres de alimentación resultaron superiores en el sistema pastoril con suplementación, diferencias que se verán acentuadas en situaciones de bajos precios de la leche y altos costos de insumos de alimentación. En el contexto de una baja participación otoño-invernal de pastura (25% de la MS consumida), los resultados indican que el sistema pastoril con suplementación es una alternativa más ventajosa que el sistema totalmente confinado. Una estrategia aconsejable para vacas de parición otoñal sería utilizar durante otoño-invierno una PMR que permita sostener altas producciones de leche y eficiencia reproductiva para luego en primavera y con el rodeo en una etapa más avanzada de lactancia aprovechar los menores costos del pastoreo y utilizar las pasturas con la suplementación estratégica (P+C) implementada en el presente ensayo.

5.5. BIBLIOGRAFÍA

- ABUGHAZALEH, A.A.; FELTON, D.O.; IBRAHIM, S.A. 2007. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil and sunflower oil supplementation to dairy cows managed under two feeding systems. *J. Dairy Sci.* 90: 4763–4769.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Arlington, VA, USA.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1998. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Arlington, VA, USA.
- ARNOTT, G.; FERRIS, C.P.; O'CONNELL, N.E. 2017. Review: welfare of dairy cows in continuously housed and pasture-based production systems. *Animal* 11(2): 261-273.
- BARGO, F.; MULLER, L.D.; DELAHOY, J.E.; CASSIDY, T.W. 2002. Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 85: 2948–2963.
- BARGO, F.; MULLER, L.D.; KOLVER, E.S.; DELAHOY, J.E. 2003. Invited review: production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. *J. Dairy Sci.* 86: 1–42.
- BAUDRACCO, J.; LOPEZ-VILLALOBOS, N.; HOLMES, C.W.; MACDONALD, K.A. 2010. Effects of stocking rate, supplementation, genotype and their interactions on grazing dairy systems: a review. *New Zeal. J. Agr. Res.* 53: 109–133.
- BREIER, B.H.; GLUCKMAN, P.D.; BASS, J.J. 1988. The somatotrophic axis in young steers: influence of nutritional status and oestradiol-17 beta on hepatic high- and low-affinity somatotrophic binding sites. *J. Endocrinol.* 116: 169–177.
- CHILLIARD, Y.; BOCQUIER, F.; DOREAU, M. 1998. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reprod. Nutr. Dev.* 38: 131-152.
- CISSÉ, M.; CHILLIARD, Y.; COXAM, V.; DAVICCO, M.J.; REMOND, B. 1991. Slow release somatotropin in dairy heifers and cows fed two levels of energy concentrate. 2. Plasma hormones and metabolites. *J. Dairy Sci.* 74: 1382-1394.
- DILLON, P.; ROCHE, J.R.; SHALLOO, L.; HORAN, B. 2005. Optimizing financial returns from grazing in temperate pastures. In: Murphy, J.J. (ed.). *Utilization of Grazed Grass in Temperate Animal Systems*. Workshop of the 20th International Grassland Congress. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherlands, pp. 131–147
- DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. 2011. *InfoStat versión 2011*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Recuperado de: <http://www.infostat.com.ar>

- DRANSFIELD, M.B.G.; NEBEL, R.L.; PEARSON, R.E.; WARNICK, L.D. 1998. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. *J. Dairy Sci.* 81: 1874–1882.
- EFSA. 2009. Scientific opinion on welfare of dairy cows in relation to metabolic and reproductive problems based on a risk assessment with special reference to the impact of housing, feeding management and genetic selection. Annex to the EFSA J. 1140, 1–75.
- FAJARDO, M.; MATTIAUDA, D.A.; MOTTA, G.; GENRO, T.C.; MEIKLE, A.; CARRIQUIRY, M.; CHILIBROSTE, P. 2015. Use de mixed rations with different access time to pastureland on productive responses of early lactation holstein cows. *Livest. Sci.* 181: 51-57.
- FERRIS, C.; MCCOY, M.; LENNOX, S.; CATNEY, D.; GORDON, F. 2002. Nutrient Utilization and Energy Balance Associated with Two Contrasting Winter Milk Production Systems for High Genetic Merit Autumn Calving Dairy Cows. *Ir. J. Agric. Food Res.* 41 (1): 55-70.
- FIKE, J.H.; STAPLES, C.R.; SOLLENBERGER, L.E.; MACOON, B.; MOORE, J.E. 2003. Pasture forages, supplementation rate, and stocking rate effects on dairy cow performance. *J. Dairy Sci.* 86: 1268–1281.
- FONTANELI, R.S.; SOLLENBERGER, L.E.; LITTELL, R.C.; STAPLES, C.R. 2005. Performance of lactating dairy cows managed on pasture–based or in freestall barn–feeding systems. *J. Dairy Sci.* 88: 1264–1276.
- GAGGIOTTI, M. 2008. Tabla de Composición Química de Alimentos para Rumiantes. Ediciones INTA .67p
- GAINES, W.L.; DAVIDSON, F.A. 1923. Relation between percentage of fat content and yield of milk. *Illinois Agric. Exp. Stn. Bull.* 245, pp. 275-620
- GALLARDO, M.R.; CASTILLO, A.R.; BARGO, F.; ABDALA, A.A.; MACIEL, M.G.; PEREZ-MONTI, H.; CASTRO, H.C.; CASTELLI, M.E. 2005. Monensin for lactating dairy cows grazing mixed-alfalfa pasture and supplemented with partial mixed ration. *J. Dairy Sci.* 88: 644-652.
- GASTALDI, L.; LITWIN, G.; MAEKAWA, M.; CENTENO, A.; ENGLER, P.; CUATRIN, A.; CHIMICZ, J.; FERRER, J.L.; SUERO M. 2015. El tambo argentino: una mirada integral de los sistemas de producción de leche de la Región Pampeana. Recuperado de: https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_el_tambo_argentino_mirada_integral_sis_prod_leche_pamp_abril_2015.pdf
- GREEN, L.E.; SCHUKKEN, Y.H.; GREEN M.J. 2006. On distinguishing cause and consequence: Do high somatic cell counts lead to lower milk yield or does high milk yield lead to lower somatic cell count? *Prev. Vet. Med.* 76: 74–89.

- GRUMMER, R.R. 1995. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J. Anim. Sci.* 73: 2820–2833.
- ISO 9622 IDF 141. 2013. Milk and Liquid Milk Products—Guidelines for the Application of Mid-Infrared Spectrometry.
- KOLVER, E.S.; MULLER, L.D. 1998. Performance and nutrient intake of high producing Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 81: 1403–1411.
- KOLVER, E.S.; ROCHE, J.R.; DE VETH, M.J.; THORNE, P.L.; NAPPER, A.R. 2002. Total mixed rations versus pasture diets: Evidence for a genotype x diet interaction in dairy cow performance. *Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.* 62: 246-251.
- KOMAREK, A.R. 1993. An improved filtering technique for the analysis of neutral detergent fiber and acid detergent fiber utilizing the filter bag technique. Ankom Tech. Corp., Fairport, NY. USA. Publication N° 101, pp. 1-10.
- LAMMERS, B.P.; BUCKMASTER, D.R.; HEINRICHS, A.J. 1996. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 79: 922-928.
- MACDONALD, K.A.; PENNO, J.W.; LANCASTER, J.A.S.; ROCHE, J.R. 2008. Effect of stocking rate on pasture production, milk production, and reproduction of dairy cows in pasture-based systems. *J. Dairy Sci.* 91: 2151-2163.
- MACOON, 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.
- MCGUIRE, M.A.; BAUMAN, D.E.; DWYER, D.A.; COHICK, W.S. 1995. Nutritional modulation of the somatotropin/insulin-like growth factor system: response to feed deprivation in lactating cows. *J. Nutr.* 125: 493–502.
- MEE, J.F. 2012. Reproductive issues arising from different management systems in the dairy industry. *Reprod. Dom. Anim.* 47 (Suppl. 5): 42–50.
- MEIJS, J.A.C.; WALTERS, R.J.K.; KEEN, A. 1982. Sward methods. In: Leaver J.D. (ed) *Herbage intake handbook*. The British Grassland Society, Grassland Research Institute, Hurley, U.K. pp. 11-37.
- MERTENS, D.R. 1994. Regulation of forage intake. In: Fahey (Jr), G.C..et al. (eds.) *Forage Quality, Evaluation and Utilization*. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, pp 450-493.
- MINSON, D.J. 1990. *Forage in ruminant nutrition*. Academic Press Inc., San Diego, California. 482 p.
- MORALES-ALMARÁZ, E.; SOLDADO, A.; GONZÁLEZ, A.; MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, A.; DOMÍNGUEZ-VARA, I.; DE LA ROZA-DELGADO, B.; VICENTE, F. 2010. Improving

the fatty acid profile of dairy cow milk by combining grazing with feeding of total mixed ration. *J. Dairy Res.* 77: 225–230.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC, USA.

NORO, M.; VARGAS, V.; PULIDO, R.G.; WITTEWER, F. 2006. Efecto del tipo de concentrado sobre indicadores sanguíneos del metabolismo de energía y de proteínas en vacas lecheras en pastoreo primaveral. *Arch. Med. Vet.* 38: 227-232.

O'NEILL, B.F.; DEIGHTON, M.H.; O'LOUGHLIN, B.M.; MULLIGAN, F.J.; BOLAND, T.M.; O'DONOVAN, M.; LEWIS, E. 2011. Effects of a perennial ryegrass diet or total mixed ration diet offered to spring-calving Holstein-Friesian dairy cows on methane emissions, dry matter intake, and milk production. *J. Dairy Sci.* 94: 1941–1951.

PEDERNERA, M.; GARCIA, S.C.; HORAGADOGA, A.; BARCHIA, I.; FULKERSON, W.J. 2008. Energy balance and reproduction on dairy cows fed to achieve low or high milk production on a pasture-based system. *J. Dairy Sci.* 91: 3896–3907.

QUILAGUY, G.A. 2015. Respuesta productiva de vacas lecheras alimentadas con diferentes niveles de ración totalmente mezclada y pastura. Tesis Magister Scientiae. Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias, Bacarce, Argentina, 86p.

RAMIREZ, L.M.; ZULIANI, S.B.; PORSTMANN, J.C.; LOPEZ, G.I. 2007. Evolución histórica de la rentabilidad de la agricultura y el tambo en el sur de Santa Fe - Periodos 1993/94 a 2004/05. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias – UNR.* VII(11): 23-34.

ROMERO, L.A.; COMERON, E.A.; BRUNO, O.A.; DÍAZ, M.C. 1995. Efecto del nivel de asignación de pasturas de alfalfa sobre la respuesta de vacas lecheras. 1. Consumo y comportamiento ingestivo. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 15 (2): 623-626.

SALADO, E.E.; GAGLIOSTRO, G.A.; BECU-VILLALOBOS, D.; LACAU-MENGIDO, I. 2004. Partial replacement of corn grain by hydrogenated oil in grazing dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 87: 1265-1278.

SAS Institute Inc. 2010. *SAS/STAT® User's Guide (2002-2010)*. SAS Institute, Cary, NC, USA.

SHORT, S.D. 2004. *Characteristics and Production Costs of U.S. Dairy Operations*. United States Department of Agriculture, Economic Research Service Statistical Bulletin No. 974–6. 20 p.

SORIANO, F.D.; POLAN, C.E.; MILLER, C.N. 2001. Supplementing pasture to lactating Holsteins fed a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 84: 2460–2468.

- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. 1963. A two-stage technique for in vitro digestion of forage crops. *J. Br. Grassland. Soc.* 18: 104-111.
- t'MANNETJE, L. 1978. Measuring quantity of grassland vegetation. In: *Measurement of grassland vegetation and animal production*. Commonwealth Bureau of Pastures and Field Crops. CAB, Farnham Royal, Bucks, UK, Bulletin N°52, pp. 63-95.
- TYRRELL, H.F.; REID, J.T. 1965. Prediction of the energy value of cow's milk. *J. Dairy Sci.* 48: 1215-1223.
- TOZER, P.R.; BARGO, F.; MULLER, L.D. 2003. Economic analyses of feeding systems combining pasture and total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 86: 808-818.
- TUCKER, W.B.; RUDE, B.J.; WITTAYAKUN, S. 2001. Case Study: Performance and economics of dairy cows fed a corn silage-based total mixed ration or grazing annual ryegrass during mid to late lactation. *Prof. Anim. Sci.* 17: 195-201.
- VAN KNEGSEL, A.T.M.; VAN DER BRAND, H.; GRAAT, E.A.M.; DIJKSTRA, J.; JORRITSMA, R.; DECUYPERE, E.; TAMMINGA, S.; KEMP, B. 2007. Dietary Energy Source in Dairy Cows in Early Lactation: Metabolites and Metabolic Hormones. *J. Dairy Sci.* 90: 1477-1485.
- VERITÉ, R.; JOURNET, M. 1970. Influence de la teneur en eau et de la deshydratation de l'herbe sur sa valeur alimentaire pour les vaches laitières. *Ann. Zootech.* 10: 269-277.
- VIBART, R.E.; FELLNER, V.; BURNS, J.C.; HUNTINGTON, G.B.; GREEN, J.T. (Jr.). 2008. Performance of lactating dairy cows fed varying levels of total mixed ration and pasture. *J. Dairy Res.* 75: 471-480.
- WASHBURN, S.P.; WHITE, S.L.; GREEN, J.T. (JR.); BENSON, G.A. 2002. Reproduction, mastitis, and body condition of seasonally calved Holstein and Jersey cows in confinement or pasture systems. *J. Dairy Sci.* 85: 105-111.
- WHITE, S.L.; BENSON, G.A.; WASHBURN, S.P.; GREEN, J.T. (Jr.). 2002. Milk production and economic measures in confinement or pasture systems using seasonally calved Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 85: 95-104.
- WILDMAN, E.E.; JONES, G.M.; WAGNER, P.E.; BOMAN, R.L.; TROUTT, H.F.; LESCH, T.N. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J. Dairy Sci.* 65: 495-501.
- WU, Z.; KANNEGANTI, V.R.; MASSINGILL, L.J.; WILTBANK, M.C.; WALGENBACH, R.P.; SATTER, L.D. 2001. Milk production of fall-calving dairy cows during summer grazing of grass or grass-clover pasture. *J. Dairy Sci.* 84: 1166-1173.
- ZEBELI, Q.; MANSMANN, D.; STEINGASS, H.; AMETAJ, B.N. 2010. Balancing diets for physically effective fibre and ruminally degradable starch: A key to lower the risk of

sub-acute rumen acidosis and improve productivity of dairy cattle. *Livestock Science* 127: 1-10.

ZEBELI, Q.; ASCHENBACH, J.R.; TAJAJ, M.; BOGUHN, J.; AMETAJ, B.N.; DROCHNER, W. 2012. *Invited review*: Role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 95: 1041–1056.

6. CONCLUSIONES FINALES

Las estrategias de suplementación implementadas en el marco del presente trabajo de tesis pusieron en evidencia efectos de adición en los consumos de materia seca y de energía ante la suplementación con niveles crecientes de concentrados energéticos en los trabajos de suplementación de primavera y también con los niveles de TMR en los trabajos de otoño-invierno. Este efecto global constituye un aporte original y de interés a fines de superar y/o atenuar consumos sub-óptimos de energía, primer factor limitante de la producción de leche en sistemas lecheros base pastoril. Alcanzar la zona de satisfacción de los requerimientos energéticos de vacas de alto mérito genético contribuiría a reducir los potenciales desórdenes metabólicos y reproductivos frecuentemente invocados para rodeos de alto mérito genético en inicio de lactancia y en sistemas de alimentación base pastoril. Los resultados permiten aceptar la hipótesis de la existencia de niveles de suplementación energética en primavera y combinaciones de pastura y TMR en otoño-invierno capaces de mejorar la respuesta productiva de vacas lecheras en pastoreo con atenuación de desórdenes metabólicos y reproductivos a través de un mayor consumo de energía. El trabajo realizado permitió también cuantificar relaciones aplicables a sistemas pastoriles mejorados a fines de generar respuestas productivas comparables a sistemas en confinamiento a un menor costo, manteniendo un adecuado valor saludable de la leche producida lo que resultó compatible con otra de las hipótesis generales del presente trabajo. Tomados en conjunto, los resultados contribuyen a incrementar el conocimiento sobre estrategias de suplementación de vacas lecheras en pastoreo para ser utilizados en la toma racional de decisiones aplicables en sistemas reales de producción de leche base pastoril tanto en primavera como en otoño-invierno o para ser utilizados como insumos por parte de los equipos que trabajan en los modelos de simulación de dichos sistemas. Los trabajos de respuesta al consumo de niveles crecientes de concentrado confirmaron la predominancia de efectos de adición (y no de sustitución) cuando la oferta de pastura fue ajustada para no limitar el consumo de forraje en pastoreo. En ausencia de restricción de oferta (kg MS/vaca/día), este fenómeno sugiere y confirma la existencia de limitantes de calidad de los forrajes para satisfacer los requerimientos de rodeos de alto mérito genético para producción de leche. La ecuación de respuesta marginal a la suplementación [Leche (kg día⁻¹) = 25,95 + 0,774 x kg MS concentrado (p < 0,042; R² = 0,37) resultó importante para definir/ajustar la dosis racional de suplemento energético a utilizar para un adecuado

ajuste de la cantidad de concentrado en rodeos reales que utilizan pasturas de calidad en primavera según el nivel de producción (actual o esperada) y también para ser utilizada para proponer modelos teóricos de simulación. En este contexto, la producción de leche se incrementó linealmente a medida que la cantidad de concentrado aumenta desde 2,7 a 11,6 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹ con una respuesta de 0,774 kg leche kg MS concentrado adicional⁻¹. La estrategia no estuvo acompañada de aumentos en la concentración proteica de la leche lo que no permite aceptar la hipótesis original de relaciones significativas y lineales entre el incremento en la disponibilidad de energía glucogénica y aumentos del tenor proteico de la leche. Resulta en cambio compatible con una mayor producción de proteína láctea y de caseínas con disminuciones del tenor ureico en leche lo que mejoraría las potenciales bonificaciones por calidad proteica. Las disminuciones observadas en la concentración de nitrógeno amoniacal en rumen pueden a su vez considerarse amigables con el ambiente al reducir potenciales excreciones excesivas de nitrógeno. El tenor graso de la leche no resultó afectado permaneciendo estable en un amplio rango de consumo de concentrados almidonosos (15 al 40% de la MS total consumida) con ausencia de riesgo de decrementos en la concentración de sólidos totales de la leche.

Previo al inicio del presente trabajo de Tesis, la información sobre la respuesta productiva esperable ante combinaciones de TMR y pastura en época otoño-invernal era inexistente en el País. En este contexto, los resultados obtenidos constituyen un aporte al haber generado información local sobre el tema. La estrategia de alimentación explorada es una herramienta para un abordaje racional de la práctica para ser implementada en los sistemas reales intensificados de producción de leche. Contribuye también a superar las limitantes de calidad y cantidad de forraje en pastoreo frecuentes en la época crítica de otoño-invierno. Se introdujo y destaca la noción de la utilización de las TMR como un suplemento integrado, complejo y global (forrajes conservados, concentrados a base de granos, subproductos proteicos, minerales y vitaminas) a ser combinado con pasturas para generar una opción de alimentación balanceada capaz de sostener altas producciones de leche y alcanzar la expresión del potencial de producción de vacas lecheras de alto mérito genético. Se trabajó en un aceptable rango de escenarios de reemplazo de pastura por TMR y se desafiaron los resultados obtenidos a través de un ensayo secuencial de aplicación de prácticas de alimentación en un modelo de lactancia extendida de parición otoño-invernal. Se concluye que la implementación de los sistemas combinados pastura-

TMR también llamados raciones parcialmente mezcladas (PMR) permitiría obtener ventajas parciales de cada sistema individual de alimentación. La información generada es considerada de interés para productores y/o asesores de sistemas tradicionales de producción que contemplan la ventaja de implementar un cambio o transición hacia sistemas mixtos intensificados de producción de leche incluyendo un confinamiento estratégico parcial en función al estado de lactancia del rodeo y la época del año. Los resultados aportan elementos cuantitativos y económicos para definir las condiciones adecuadas de reemplazo de pastura por TMR. Especial énfasis deberá ponerse en el efecto depresor de la pastura sobre el consumo total de MS y por lo tanto de energía en la medida que el forraje fresco es incluido en una alta proporción en la ración total o PMR. Tanto el consumo como la producción de leche aumentaron en forma lineal al hacerlo la proporción de TMR en la ración total. El incremento promedio en la producción de leche se estimó en $1,13 \text{ kg día}^{-1}$ de leche por cada 10% de consumo adicional de TMR. El modelo ajustado indicó un aumento en el CMS total de $0,69 \text{ kg día}^{-1}$ por cada 10% de incremento en el CMS de TMR, resultado que ilustra el claro efecto de adición mencionado equiparándose a lo que ocurre con la suplementación tradicional a base de concentrados. Cuando la alimentación es sólo pastura el consumo de MS total estimado sería de tan sólo $17,45 \text{ kg día}^{-1}$. Los efectos depresores del consumo podrían amplificar el balance energético negativo en vacas de alto mérito genético en lactancia temprana incrementando las pérdidas de peso y de condición corporal. Dicho efecto estaría explicado por deficiencias cualitativas en la composición química del forraje y/o factores que afectan el comportamiento animal con un potencial efecto negativo sobre la condición corporal de vacas de alta producción. Se considera que estos resultados resultan aptos para alimentar modelos de simulación con alternativas viables de alimentación en sistemas de producción de leche base pastoril manteniendo el valor saludable de la leche producida.

7. APÉNDICE

PUBLICACIONES

En Congresos

- SALADO, E.E.; BRETSCHEIDER, G.; CUATRIN, A.; CARASSAI, A.; ESPÍÑEIRA, M.; HAEDO, E. 2010. Suplementación de vacas lecheras en pastoreo con niveles crecientes de concentrado energético: 1. Producción y composición de leche. Rev. Arg. Prod. Anim. 30 (supl. 1): 520-521.
- SALADO, E.E.; BRETSCHEIDER, G.; SCANDOLO, D.; CUATRIN, A. 2010. Suplementación de vacas lecheras en pastoreo con niveles crecientes de concentrado energético: 2. Peso vivo, condición corporal, metabolitos y hormonas plasmáticas. Rev. Arg. Prod. Anim. 30 (supl. 1): 522-523.
- SALADO, E.E.; BRETSCHEIDER, G.; GAGGIOTTI, M.; CUATRIN, A. 2010. Suplementación de vacas lecheras en pastoreo con niveles crecientes de concentrado energético: 3. Ambiente y digestión ruminal. Rev. Arg. Prod. Anim. 30 (supl. 1): 523-525.
- SALADO, E.E.; BRETSCHEIDER, G.; CUATRIN, A.; BECHARA BALADI, J.; MAGGIA, M.; ROLDÁN, A.; SIGAUDDO, V. 2011. Suplementación de vacas lecheras con niveles crecientes de concentrado: 1. Producción y composición de leche. Rev. Arg. Prod. Anim. 31 (supl. 1): 340.
- SALADO, E.E.; BRETSCHEIDER, G.; SCANDOLO, D. 2011. Suplementación de vacas lecheras con niveles crecientes de concentrado: 2. Peso vivo, condición corporal, metabolitos y hormonas plasmáticas. Rev. Arg. Prod. Anim. 31 (supl. 1): 341.
- SALADO, E.E.; BRETSCHEIDER, G.; GAGGIOTTI, M. 2011. Suplementación de vacas lecheras con niveles crecientes de concentrado: 3. Ambiente y digestión ruminal. Rev. Arg. Prod. Anim. 31 (supl. 1): 342.
- SALADO, E.E.; BRETSCHEIDER, G.; COSTABEL, L.; CAMPOS, S. 2011. Ácidos grasos de la leche de vacas en pastoreo suplementadas con niveles crecientes de concentrado. Rev. Arg. Prod. Anim. 31 (supl. 1): 343.
- ROSSETTI, L.; DESCALZO, A.M.; RIZZO, S.A.; SALADO, E.E.; BRETSCHEIDER, G. 2011. Vitaminas antioxidantes en leche de vacas con niveles crecientes de concentrado. Rev. Arg. Prod. Anim. 31 (supl. 1): 339.
- SALADO, E.E.; BRETSCHEIDER, G.; CUATRIN, A.; EYHERABIDE, G. 2012. Respuesta productiva de vacas lecheras alimentadas con distintos niveles de ración totalmente mezclada y pastura. Rev. Arg. Prod. Anim. 32 (supl. 1): 177.

- SALADO, E.E.; BRETSCHEIDER, G.; CUATRIN, A. 2012. Reemplazo de ración totalmente mezclada por pastura en vacas lecheras: peso vivo, metabolitos y hormonas plasmáticas. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 32 (supl. 1): 178.
- SALADO, E.E.; BRETSCHEIDER, G.; GAGGIOTTI, M. 2012. Ambiente y digestión ruminal de vacas lecheras alimentadas con distintos niveles de ración totalmente mezclada y pastura. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 32 (supl. 1): 176.
- SALADO, E.E.; BRETSCHEIDER, G.; CUATRIN, A.; CAZZANIGA, D.; GIORDANO, G. 2012. Composición en ácidos grasos de la leche de vacas lecheras alimentadas con distintos niveles de ración totalmente mezclada y pastura. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 32 (supl. 1): 175.
- COSTABEL, L.; PÁEZ, R.; TAVERNA, M.; AUDERO, G.; GARCIA, M.; LIMONTA, M.E.; SALADO, E.E. Efecto del aporte de avena en la dieta de vacas lecheras sobre la calidad del queso Reggianito. IV° Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Córdoba, Argentina, 14-16 Noviembre 2012.
- RAMOS, M.V.; ROSSETTI, L.; PÉREZ, C.D.; RIZZO, S.A.; DÍAZ, G.; SALADO, E.E.; DESCALZO, A.M. Antioxidantes en leche de vacas alimentadas con diferentes proporciones de pastura de avena y su recuperación en cremas pasteurizadas. IV° Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Córdoba, Argentina, 14-16 Noviembre 2012.
- RAMOS, M.V.; PÉREZ, C.D.; ROSSETTI, L.; RIZZO, S.A.; CUNZOLO, S.A.; SALADO, E.E.; DESCALZO, A.M. Cambios en ácidos grasos de cremas pasteurizadas de vacas lecheras con diferente dieta pastoril y oxidación basal en leche cruda. IV° Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Córdoba, Argentina, 14-16 Noviembre 2012.
- SALADO, E.E.; BRETSCHEIDER, G.; CUATRIN, A. 2014. Efecto de distintos sistemas de alimentación sobre la respuesta productiva de vacas lecheras: 1. Producción y composición de leche. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 34 (supl. 1): 422.
- SALADO, E.E.; MACIEL, M.; BRETSCHEIDER, G.; CUATRIN, A. 2014. Efecto de distintos sistemas de alimentación sobre la respuesta productiva de vacas lecheras: 2. Parámetros de estado corporal y desempeño reproductivo. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 34 (supl. 1): 423.

Conference Paper

- SALADO, E.E. Estrategias de alimentación en sistemas lecheros: comparación de sistemas confinados vs. pastoriles. 12° Congreso Panamericano de la Leche. Asunción, Paraguay, 06 Junio 2012.

En Revistas Científicas con referato

- SALADO, E.E.; BRETSCHEIDER, G.; CUATRIN, A.; DESCALZO, A.M.; GAGLIOSTRO, G.A. 2017. Milk Yield and Composition and Pasture Ruminant Digestion in Grazing Dairy Cows Receiving Three Levels of Energy Concentrate Supplementation. *Agricultural Sciences*, 8, 1135-1156. <https://doi.org/10.4236/as.2017.810083>
- SALADO, E.E.; BRETSCHEIDER, G.; CUATRIN, A.; DESCALZO, A.M.; GAGLIOSTRO, G.A. 2018. Productive Response of Dairy Cows Fed with Different Levels of Totally Mixed Ration and Pasture. *Agricultural Sciences*, 9, 824-851. <https://doi.org/10.4236/as.2018.97058>
- SALADO, E.E.; BRETSCHEIDER, G.; CUATRIN, A.; GAGLIOSTRO, G.A. 2018. Effects of Supplementation with Increasing Levels of Energy Concentrate on the Productive Response and Ruminant Digestion of Dairy Cows Grazing Lucerne Pasture. *Agricultural Sciences*, 9, 1487-1505. <https://doi.org/10.4236/as.2018.911104>
- SALADO, E.E.; MACIEL, M.G.; BRETSCHEIDER, G.; CUATRIN, A.; GAGLIOSTRO, G.A. 2020. Productive Response and Reproductive Performance of Dairy Cows Subjected to Different Feeding Systems. *Open Journal of Animal Sciences*, 10, 10-32. <https://doi.org/10.4236/ojas.2020.101002>