

**EFFECTO DEL REEMPLAZO DE PASTURA CON GRANO
DE MAÍZ SOBRE LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN
DE LECHE EN VACAS LECHERAS EN PRIMAVERA**

PABLO BARBERA

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

MAGISTER SCIENTIAE EN PRODUCCIÓN ANIMAL

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

Balcarce, Argentina

Septiembre de 2009

**EFFECTO DEL REEMPLAZO DE PASTURA CON GRANO
DE MAÍZ SOBRE LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN
DE LECHE EN VACAS LECHERAS EN PRIMAVERA**

PABLO BARBERA

Director de Tesis Ing. Agr. M.Sc. Carlos Cangiano

Codirector de Tesis Ing. Agr. M.Sc., PhD. Gerardo Gagliostro

EFFECTO DEL REEMPLAZO DE PASTURA CON GRANO DE MAÍZ SOBRE LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LECHE EN VACAS LECHERAS EN PRIMAVERA

PABLO BARBERA

Aprobada por:

Jurado Evaluador Externo Ing. Agr. PhD. Alejandra Acosta

Jurado Evaluador Externo Ing. Agr. PhD. Eduardo A. Comeron

Jurado Evaluador Externo Ing. Agr. PhD. Sergio García

ÍNDICE

Índice de cuadros	vi
Índice de figuras	vii
Resumen	viii
Abstract	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Fisiología de la lactancia temprana.	3
2.2. Efecto del tipo de dieta sobre la producción y composición de la leche.	5
2.3. Suplementación de vacas lecheras en pastoreo con concentrados energéticos.	10
3. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1. Lugar, tratamientos y animales experimentales.	15
3.2. Mediciones.	18
3.2.1. Composición química de los alimentos.	18
3.2.2. Biomasa aérea de la pastura.	19
3.2.3. Consumo.	19
3.2.4. Producción y composición de leche.	21
3.2.5. Peso vivo y condición corporal.	21
3.2.6. Metabolitos sanguíneos.	22
3.2.7. Balance de nutrientes.	22
3.3. Análisis estadístico.	22
4. RESULTADOS	25

4.1. Biomasa aérea, eficiencia de cosecha y oferta de pastura.	25
4.2. Composición química de los alimentos.	26
4.3. Consumo.	28
4.4. Producción y composición de la leche.	29
4.5. Peso vivo y condición corporal.	31
4.6. Metabolitos sanguíneos.	32
4.7. Balance de nutrientes.	33
5. DISCUSIÓN	35
6. CONCLUSIONES	45
7. BIBLIOGRAFÍA	46

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Consumos teóricos de materia seca (MS), de energía metabolizable (EM) y de proteína bruta (PB) necesarios para satisfacer los requerimientos de producción de una vaca de 560 kg produciendo 25 litros de leche con 34 g.kg de GB ⁻¹ .	16
Cuadro 2. Composición de los alimentos utilizados en el tambo durante la primavera de 2006, usada para formular las dietas del experimento.	17
Cuadro 3. Biomasa inicial y remanente, eficiencia de cosecha y oferta de cada tratamiento.	25
Cuadro 4. Composición química de los alimentos utilizados durante la fase preexperimental y experimental.	27
Cuadro 5. Consumo de pastura, grano de maíz y total en materia seca, consumo de energía total y glucogénica y concentración de proteína en la ración total de vacas en pastoreo y en lactancia temprana suplementadas con 2 (T1), 4 (T2), 6 (T3) y 8 (T4) kg de grano de maíz.	29
Cuadro 6. Producción y composición de la leche en vacas en pastoreo y en lactancia temprana suplementadas con 2 (T1), 4 (T2), 6 (T3) y 8 (T4) kg de grano de maíz.	31
Cuadro 7. Peso vivo y condición corporal de vacas en pastoreo y en lactancia temprana suplementadas con 2 (T1), 4 (T2), 6 (T3) y 8 (T4) kg de grano de maíz.	32
Cuadro 8. Concentración plasmática de glucosa, urea y ácidos grasos no esterificados (AGNE) en vacas en pastoreo y en lactancia temprana suplementadas con 2 (T1), 4 (T2), 6 (T3) y 8 (T4) kg de grano de maíz.	33
Cuadro 9. Balance de nutrientes en vacas en pastoreo y en lactancia temprana suplementadas con 2 (T1), 4 (T2), 6 (T3) y 8 (T4) kg de grano de maíz.	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Digestibilidad y contenido de FDN y proteína bruta de la pastura en distintas fechas.

26

Figura 2. Concentración de lactosa en cada tratamiento en distintas épocas.

30

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue conocer el efecto de diferentes niveles de grano de maíz suplementario sobre la producción y composición de leche en vacas en lactancia temprana, a similar consumo de energía digestible. La hipótesis es que el aporte creciente de energía glucogénica bajo la forma de grano de maíz permite aumentar la producción de leche y concentración de proteína, cuando el consumo total de energía es constante y en condiciones pastoriles en primavera. El experimento se realizó en la EEA INTA Balcarce de octubre a diciembre de 2007, sobre una pastura de pasto ovillo (*Dactylis glomerata*). Los tratamientos fueron dosis crecientes de grano de maíz quebrado (T1=2 T2=4 T3=6 y T4=8 kg maíz.vaca⁻¹.día⁻¹) y ofertas decrecientes de pastura (T1=30,4 T2=26,4 T3=23,7 y T4=20,1 kg MS.vaca⁻¹.día⁻¹), a fin de generar dietas isoenergéticas. Se utilizaron 21 vacas multíparas Holando Argentino en el primer tercio de lactancia, distribuidas aleatoriamente en 4 lotes homogéneos en producción de leche y días de lactancia. Luego de un período de covariable (día 7-17 posparto) se asignaron los tratamientos durante 5 semanas (3 de acostumbramiento y 2 de medición). El consumo total promedio fue de 16,5 kg MS⁻¹ y 40,8 Mcal EM.vaca⁻¹.día⁻¹ y no difirió entre tratamientos. El consumo estimado de energía glucogénica difirió entre tratamientos no contiguos, con una diferencia máxima de 1,81Mcal ENlactancia.vaca⁻¹.día⁻¹ entre T1 y T4. No hubo efecto significativo de los tratamientos en producción de leche, proteína, grasa butirosa y concentración proteica. No hubo diferencias en la ganancia de peso vivo y cambio de estado corporal entre tratamientos. Dentro del rango de energía glucogénica alcanzado (18,8 a 23,9% de la energía total), la hipótesis planteada no se cumplió, para vacas consumiendo 26 Mcal ENlactación.día⁻¹. La disponibilidad de 4,5 Mcal de ENlactación.vaca⁻¹.día⁻¹ de energía glucogénica estimada para el tratamiento con menor cantidad de grano de maíz (T1) fue suficiente para asegurar la producción de 20 kg de leche.vaca⁻¹.día⁻¹ y una concentración proteica de 29 g.kg⁻¹.

Palabras clave: precursores glucogénicos, suplementación, pastoreo, *Dactylis glomerata*, relación forraje:concentrado.

ABSTRACT

Effect of replacing pasture with corn grain on milk production and composition in grazing dairy cows in spring

The objective of the study was to measure the effect of replacing pasture with corn grain as a source of energy on milk production and composition, over a *Dactylis glomerata* perennial pasture in spring. It was hypothesized that milk production and milk protein content would increase with increasing amounts of glucogenic energy as corn grain at a constant level of energy intake. Treatments were increasing amounts of cracked corn grain (T1=2 T2=4 T3=6 y T4=8 kg.cow⁻¹.day⁻¹) and decreasing amounts on pasture on offer (T1=30,4 T2=26,4 T3=23,7 y T4=20,1 kg.cow⁻¹.day⁻¹) to achieve isoenergetic diets. The trial was carried out in EEA INTA Balcarce. Twenty-one multiparous Holstein cows in the first stage of lactation were randomized in four homogeneous groups by milk production and days in lactation. Treatments were assigned after a covariable period (7-17 days postpartum) and the experimental period comprised 5 weeks with the last 2 weeks of measuring. Average total intake was 16,5 Kg DM.cow⁻¹.day⁻¹ and 40,5 Mcal ME.cow⁻¹.day⁻¹ and there were no differences between treatments. Estimated glucogenic energy intake was different between non consecutive treatments and the maximum difference was 1,81 Mcal NE lactation.cow⁻¹.day⁻¹ between T1 and T4. There were no differences in milk production, milk fat and protein production or protein concentration between treatments. There were no differences in live weight gains or change in body condition between treatments. The increment in the proportion of glucogenic energy from 18,8 to 23,9% of total energy did not enhance production for cows consuming 26 Mcal NE of lactation.day⁻¹. The amount of 4,5 Mcal of NE lactation.cow⁻¹.day⁻¹ as glucogenic energy estimated for the treatment with less corn grain intake was enough to assure a production of 20 kg milk.day⁻¹ with a milk protein concentration of 29 g.kg⁻¹

Key words: glucogenic precursors, supplementation, *Dactylis glomerata*, grazing, forage:concentrate ratio.

1. INTRODUCCIÓN

La correcta alimentación de la vaca lechera en el inicio de lactancia permite que se exprese el pico de producción de leche, el cual tiene gran influencia en la producción total. Por otra parte, mientras mejor nutrida esté la vaca en este período más rápidamente se restablecerá su actividad reproductiva.

En la Argentina, los sistemas de producción de leche combinan las pasturas y los concentrados (granos y sus subproductos) en la alimentación de la vaca lechera en inicio de lactancia. Los productos finales de la fermentación y digestión de las pasturas difieren de los generados por los concentrados energéticos. 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. Entre los suplementos energéticos disponibles y más utilizados, el grano de maíz es el que posee mayor cantidad de almidón con capacidad de pasar al intestino (Huntington, 1997).

La disponibilidad de precursores glucogénicos para su absorción en el tracto digestivo de la vaca lechera es importante para la síntesis de lactosa y proteína en la glándula mamaria. La entrada de glucosa a la glándula mamaria es el principal determinante de la cantidad de leche producida (Kronfeld, 1976) y todo aumento de energía no lipídica absorbida resulta predisponente a incrementar el tenor proteico de la leche (Gagliostro, 2000).

La concentración de proteína láctea comienza a ser priorizada en Argentina a partir de fines de la década del '90, cuando la industria láctea instala un sistema de pago que bonifica proporcionalmente más a la proteína que a la grasa butirosa (GB. Gallardo, 2003). Esto se debió a que el parámetro que mayor influencia tiene sobre el

rendimiento de la leche para la elaboración de quesos es la concentración proteica (Taverna, 2005).

En condiciones no pastoriles, un aumento de la energía absorbida bajo la forma de precursores glucogénicos aumentó la producción de leche en forma curvilínea y la concentración proteica en forma lineal (Rigout et al. 2003) con una respuesta máxima en producción de leche cuando entre 8 a 10 Mcal de EN de lactación ingresaron al organismo bajo la forma de precursores glucogénicos.

Bajo condiciones pastoriles de alimentación, la incorporación de granos de cereales como suplemento permite aumentar la producción y concentración proteica de la leche (Kellaway y Harrington, 2004). Las mejoras productivas derivadas de la suplementación con granos 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.

Los resultados que examinan la respuesta productiva de la vaca lechera ante el reemplazo de pastura por grano de maíz en la ración son aún escasos como para obtener o ajustar funciones de respuesta. El objetivo del presente trabajo fue conocer el efecto de diferentes niveles de grano de maíz suplementario sobre la producción y composición de la leche en vacas en lactancia temprana, a similar consumo de energía digestible. La hipótesis de trabajo es que el aporte creciente de energía glucogénica bajo la forma de grano de maíz en la dieta en reemplazo de la pastura permite aumentar la producción de leche y concentración de proteína en condiciones pastoriles, cuando el consumo total de energía digestible es constante y sobre pasturas de primavera.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Fisiología de la lactancia temprana.

Bajo condiciones normales de alimentación, el pico de producción de leche se produce a las 3 - 4 semanas posparto, y la máxima capacidad de consumo se alcanza varias semanas después (Bauman y Bruce Currie, 1980). El consumo restringido y los altos requerimientos que impone el inicio de lactancia generan un balance energético negativo en el animal, con el agravante de que el incremento del mérito genético para producción de leche no ha sido acompañado por un incremento genético para aumentar el consumo (Veercamp, 2000 citado en Van Knegsel et al. 2005).

La vaca lechera moviliza sus reservas corporales para cubrir el déficit de energía fundamentalmente bajo la forma de ácidos grasos de cadena larga unidos a las albúminas como proteínas de transporte. Aparte del agua, los sustratos 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 ácidos grasos pueden ser absorbidos directamente en el intestino, en una situación de aporte de lípidos suplementarios o ser movilizados a partir del tejido adiposo como fuente de ácidos grasos preformados. El acetato y los aminoácidos son absorbidos directamente del tracto digestivo y el 3-hidroxibutirato se genera en las paredes del rumen a partir del butirato. Debido a que gran parte de los carbohidratos de la dieta son fermentados y reducidos a ácidos grasos volátiles (AGV) en el rumen, el requerimiento de glucosa es fundamentalmente abastecido por la gluconeogénesis hepática a partir de propionato, siendo éste un proceso crítico para la producción de leche. La glándula mamaria utiliza entre el 60 y el 85% de la glucosa disponible en rumiantes en lactancia y la misma es utilizada en un 50-85% para la producción de

lactosa (Knowlton et al. 1998). En menor medida la glucosa es también utilizada para la producción de glicerol y la obtención de equivalentes reductores bajo la forma de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato 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.

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 Kneysel et al. 2005). En la vaca lechera en lactancia temprana existe un desbalance en esta relación, ya que gran parte de la glucosa es capturada por la glándula mamaria y parte de la energía disponible proviene de la movilización de reservas.

Las fuentes de energía de la dieta pueden alterar este balance entre acetilCoA/oxalacetato y modificar la concentración plasmática de ácidos grasos no esterificados (AGNE), β -hidroxibutirato y glucosa (Van Kneysel et al. 2005). 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. Hurtaud et al (2000) encontraron 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 la performance reproductiva (Van Kneysel et al. 2005) y alterar la producción y composición de la leche.

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

La manipulación de la dieta de la vaca lechera puede generar distintos patrones de utilización de los nutrientes a igual cantidad de energía digestible (Sutton, 1985). Flatt et al (1969) proporcionaron a vacas lecheras heno de alfalfa y concentrados a base de maíz en las relaciones 60:40, 40:60 y 20:80, respectivamente, a similares consumos de energía digestible. La producción de leche no fue alterada por los tratamientos pero a medida que aumentaba la proporción de concentrados la producción y concentración de grasa disminuyó (Sutton, 1985). Broster et al. (1985) trabajando con henos y concentrados a base de cebada en relación 60:40 y 10:90, respectivamente, encontraron una depresión semejante en la producción de grasa, pero la producción de leche aumentó un 25-35% (Sutton, 1985).

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 del 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 en la asimilación de las hexosas a piruvato y el 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 los AGV producidos en rumen. El ácido acético es el principal producto derivado de la fermentación ruminal tanto de la fibra como de los carbohidratos no estructurales (CNES), pero a mayor proporción de CNES en la dieta mayor es la proporción de ácido propiónico en el total de AGV (Sutton, 1985). En los trabajos revisados por Sutton (1985) la proporción de propiónico medido en rumen fue de 17 a 30 moles.100 moles de AGV^{-1} totales para dietas normales (35 a 55% de forraje) y de 31 a 47 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 del almidón en el intestino delgado es teóricamente una vía más eficiente para la utilización de la glucosa que la fermentación ruminal y posterior gluconeogénesis en hígado a partir del propionato generado en rumen (Knowlton et al. 1998). Owens et al (1986) calculó que para ganancia de peso en animales en crecimiento, la utilización del almidón digerido en intestino era un 42% más eficiente que su utilización en rumen, y determinó que si la digestibilidad intestinal del almidón no degradado en rumen (pasante) supera el 70%, el escape de almidón del rumen debe mejorar la respuesta productiva en rumiantes. Como contrapartida el autor también indica que una reducción de la digestión ruminal del almidón reduce la cantidad de energía disponible para los microbios 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 et al. 1972). Kronfeld (1976) indicó que para que la eficiencia de uso de la EM para lactación sea óptima la provisión de nutrientes a la glándula mamaria debe tener determinadas proporciones de aminoácidos (AA), acetato, β -hidroxibutirato, glucosa y ácidos grasos de cadena larga. Este autor calculó las eficiencias teóricas de síntesis de cada componente de la leche a partir de productos de la digestión, las cuales fueron 78% para lactosa, 84% para proteína y 71% para triacilgliceroles, y una eficiencia parcial teórica de 76% para síntesis de leche a partir de productos de la digestión de dietas mixtas. En condiciones experimentales se registraron eficiencias de uso de la EM para lactación de 61 a 65%, y con concentraciones de EM del alimento de 2 a 3 Mcal.kgMS⁻¹, la energía neta (EN) lactación varió entre 1,213 y 1,916 Mcal.kg MS⁻¹, lo que indica eficiencias del 60,7 y 63,9% (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).

Esta información, si bien fue obtenida con experimentos de calorimetría hace más de 30 años, sigue siendo la base de los actuales sistemas de alimentación utilizados en Europa y Estados Unidos. Experimentos posteriores determinaron que la concentración de fibra en la dieta, que afecta el valor energético de la misma, tiene poco efecto sobre la eficiencia de utilización de la EM para lactación (Agnew y Yan, 2000). Sin embargo, un aumento en la concentración de fibra en la dieta puede incrementar el costo de mantenimiento, por mayor tamaño y actividad metabólica de los órganos viscerales, dejando una menor proporción de energía disponible para producción (Yan et al, 1997. Bruinenberg et al, 2002).

En función de lo expuesto, la energía digestible proveniente de la dieta se aprovecharía de mejor manera a medida que se incrementa la proporción de concentrados en la misma. Como contrapartida, la proporción de concentrados en la dieta puede modificar la partición de la energía disponible para producción entre producción de leche y reservas corporales. Varios experimentos de alimentación e infusiones han demostrado que un aumento en la proporción de ácido propiónico en el rumen puede resultar en más energía destinada a reservas corporales y menos a producción de leche (Agnew y Yan, 2000).

Con respecto a la composición de la leche, la misma puede modificarse de tres formas: la nutrición, la genética y la transformación industrial (Walker et al. 2004) siendo la nutrición 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 del cambio en el consumo de fibra, la relación forraje:concentrado, la composición de los carbohidratos de los concentrados, lípidos en la dieta, el nivel de consumo y la frecuencia de alimentación (Sutton, 1989). Los cambios posibles en la concentración proteica son mucho menores. Las proteínas de la leche son sintetizadas principalmente en el retículo endoplásmico de las células alveolares, y luego de pasar por el aparato de Golgi son secretadas al lumen alveolar en vesículas junto con la lactosa, la cual es el principal componente osmóticamente activo de la leche. La secreción conjunta de las proteínas y la lactosa ha sido propuesta como una de las causas principales de la estabilidad en la concentración proteica de la leche (Sutton, 1989).

Los efectos mejor documentados de cambios en la concentración proteica de la leche son el nivel de consumo y la inclusión de lípidos (Sutton, 1989). El aumento en el consumo de energía incrementa el contenido proteico de la leche, a través del aumento en la producción de proteína microbiana en el rumen (Kellaway y Harrington, 2004) y posiblemente porque la proporción de propiónico generado en el rumen aumenta con el nivel de consumo. El efecto puede ser mayor cuando las vacas están inicialmente subalimentadas ó 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 su efecto no ha sido aislado en muchos experimentos del efecto nivel de consumo, y en algunos trabajos hubo un efecto positivo en la concentración proteica con la disminución de la fibra, mientras que en otros no hubo cambios (Sutton, 1989).

La concentración proteica de la leche puede modificarse al cambiar la cantidad de glucosa disponible, a través de mecanismos no bien conocidos. La explicación clásica se relaciona con el ahorro de AA glucogénicos (Clark, 1975) cuando la disponibilidad de glucosa es mayor. Este autor dice que la infusión de glucosa en intestino y el plano

nutricional afectan la concentración plasmática de AA. Bajo condiciones de alta disponibilidad de AA, la producción de proteína láctea aumenta, la concentración plasmática de AA esenciales disminuye y la de no esenciales aumenta. La infusión de caseína ha generado aumentos en la producción de leche de 1 a 4 kg.día⁻¹ y aumentos significativos en la composición proteica, mientras que la infusión de AA individuales sólo ha generado aumentos en la concentración proteica y no en la producción de leche (Clark, 1975). Hurtaud et al (2000) proponen que una mayor concentración de proteína en leche se puede deber a un exceso de AA y un aumento en el transporte de los mismos en forma de proteína en las vesículas secretoras.

Varios trabajos midieron el efecto de infusiones de glucosa ó almidón en intestino y AGV en el rumen sobre la producción y composición de la leche. Knowlton et al (1998) infundieron en rumen ó intestino 1,5 kg de almidón.día⁻¹ a vacas en inicio de lactancia produciendo 40 litros.día⁻¹. Las infusiones incrementaron el consumo de energía digestible y hubo una tendencia a mayor producción de leche, pero no hubo diferencias en la composición de la leche y producción de sólidos. Tampoco hubo efecto del lugar de infusión en ninguna de las variables productivas. Lemosquet et al (1997) compararon un control con la infusión de 1,5 kg de glucosa en intestino a consumo constante (incluyendo la infusión) y no encontraron cambios significativos en la producción de leche (26,3 y 25,5 litros para control y tratamiento) y de proteína, pero sí registraron una caída en la producción y concentración de GB. Hurtaud et al (1998, 2000) infundieron dosis crecientes de glucosa en el intestino de vacas lecheras con dietas basadas en silaje de pasturas ó maíz, manteniendo constante el consumo total de energía. La producción de leche y composición proteica aumentaron con la infusión de hasta 1,5 kg de glucosa en dietas basadas en silaje de pasturas, mientras que no hubo efecto en estas variables con dietas basadas en silaje de maíz. Los autores concluyen que dietas basadas en silaje de maíz tienen una provisión basal de glucosa

en intestino suficiente para garantizar la máxima producción de leche. Con la infusión de glucosa se logró aumentar la llegada de la misma a la glándula mamaria, sin embargo esto no se tradujo en una mayor producción de lactosa. Rigout et al (2002) también infundieron dosis crecientes de glucosa en intestino y encontraron un aumento en la producción de leche hasta aproximadamente 1 kg de glucosa. La infusión de 2,4 kg de glucosa no aumentó la producción de leche y los autores concluyeron 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.

Rigout et al (2003), en su revisión de trabajos con infusiones, concluyeron que el aumento de la energía en forma de precursores glucogénicos aumenta la producción de leche en forma curvilínea y la concentración proteica en forma lineal. La máxima respuesta en producción de leche se dio con 8 a 10 Mcal de energía en forma de precursores glucogénicos, equivalente a 2,91-3,64 kg de glucosa digestible en intestino para ensayos realizados con vacas produciendo entre 25 y 40 litros. El valor máximo de este rango (3,64 kg) es semejante a la cantidad de almidón necesaria en intestino propuesta por Huntington y Richards (2005) de 3,90 kg.día⁻¹ para una vaca produciendo 44 litros.día⁻¹ y con una tasa de pérdida irreversible de 2,73 kg.día⁻¹.

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

Alcanzar altos niveles de consumo en animales 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 al ofrecer altas cantidades de forraje por animal para facilitar la cosecha y la selección, pero esto lleva a un bajo aprovechamiento de las pasturas (Peyraud y Delaby, 2005) y a una merma en la productividad por unidad de superficie. 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 et al. 2005).

La suplementación con concentrados energéticos (como los granos de cereales) es una práctica que en general permite aumentar el consumo de materia seca y energía, y puede mejorar el balance de nutrientes cuando la calidad del forraje no es óptima. La inclusión de suplementos en la dieta de vacas lecheras, generalmente deprime el consumo de materia seca de la 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) es variable y muy difícil de predecir, pero en general es mayor a medida que aumenta el consumo de pastura de los animales sin suplemento. Stockdale (2000) encontró una relación lineal positiva entre el consumo 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 reducción en la TS y a una mayor respuesta en consumo de materia seca y energía (Leaver, 1986). Meijs y Hoekstra (1984) registraron el consumo de forraje y la TS generada por la inclusión de suplementos concentrados a distintos niveles de oferta de forraje en vacas lecheras. Un incremento en la oferta de pastura estuvo asociado a un aumento en el consumo de forraje 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 materia seca, mientras que con una oferta de pastura mayor ($25 \text{ kg MS.vaca}^{-1}.\text{día}^{-1}$) la

TS fue más alta (0,50). Con suplementos concentrados ofrecidos a vacas lecheras en pasturas templadas, la TS puede ir de 0 con alta presión de pastoreo a 0,6-0,8 con moderada a baja presión de pastoreo (Dillon, 2006). Este autor sugiere además que con el incremento del mérito genético de las vacas han disminuido los niveles de sustitución de 0,6 a 0,4 en promedio para ensayos anteriores y posteriores a 1990, respectivamente.

La respuesta en producción de leche a la suplementación de vacas lecheras puede dividirse en la respuesta inmediata, acumulativa y residual (Broster y Broster, 1984). La respuesta inmediata es aquella que se expresa en el corto plazo luego de implementada la suplementación, y es el resultado del total de nutrientes absorbidos y de la partición de ellos entre producción de leche y ganancia de peso. La respuesta acumulativa se manifiesta a lo largo de la lactancia si se mantiene la suplementación, y es calculada generalmente como la respuesta promedio en un período de tiempo determinado (Kellaway y Harrington, 2004). La respuesta residual puede expresarse como el aumento en la producción luego de discontinuada la suplementación. Tanto la respuesta acumulativa como la residual están moduladas por cambios internos en el animal derivados de la suplementación en la lactancia temprana (modificación de las reservas corporales y la estimulación del tejido secretor de la glándula mamaria) y por cambios en el sistema mismo de producción, como la acumulación de forraje (Kellaway y Harrington, 2004).

La respuesta inmediata a la suplementación de vacas lecheras con concentrados energéticos puede variar entre 0 -1,6 litros de leche.kg de suplemento⁻¹ (Stockdale et al. 1987). Peyraud y Delaby (2001) reportaron respuestas de 0,66 y 0,89 kg de leche.kg de 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 respuesta total a lo largo de la lactancia (inmediata y residual) fue de 1,1 -

2,5 kg de leche.kg de suplemento⁻¹, dependiendo principalmente de la cantidad y calidad de pasto disponible (Kellaway y Harrington, 2004).

Con respecto al efecto de la suplementación sobre la composición de leche, la inclusión de suplementos energéticos en general deprime la concentración de GB de la leche y aumenta el contenido de proteína de la misma. Bargo et al (2003) determinaron que la suplementación deprimió la concentración de grasa en la leche en 0,24 unidades porcentuales, sin afectar la producción total de GB, y aumentó la concentración de proteína en 0,13 unidades porcentuales y la producción de proteína en 0,17 kg.día⁻¹. En esta revisión, la suplementación tuvo un rango de 1,8 a 10,4 kg.vaca⁻¹.día⁻¹ de concentrado y generó, en promedio, un aumento del consumo total de 3,6 kg MS.vaca⁻¹.día⁻¹.

Stockdale (1994, en Kellaway y Harrington, 2004) revisó 27 experimentos realizados en Australia y concluyó que los suplementos con almidón, como los granos de cereales, son la mejor forma de mejorar el contenido proteico de la leche. Esta mejora 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). Un aumento promedio en el consumo de energía metabolizable de 4,28 Mcal derivada de suplementos concentrados generó un aumento en el contenido proteico de 1 g.kg leche⁻¹, mientras que cuando se utilizaron silajes de maíz ó pasturas como suplemento se necesitaron 7,05 Mcal para lograr tal incremento (Kellaway y Harrington, 2004).

Conclusiones generales de la revisión y áreas que requieren mayor investigación

De lo expuesto anteriormente surge que la vaca lechera en inicios de lactancia es una categoría particularmente demandante en PG para poder expresar su potencial de

producción y fertilidad. La provisión de dietas con una proporción creciente de concentrados genera condiciones ruminales para mayor proporción de ácido propiónico, disminuye las pérdidas de energía en forma de metano y puede incrementar la disponibilidad de glucosa en intestino si se utilizan granos con capacidad pasante. Como contrapartida, dietas más glucogénicas pueden incrementar el uso de la energía para deposición de tejidos corporales en detrimento de la producción de leche, y una utilización excesiva de energía pasante puede ir en detrimento de la producción de proteína microbial.

Los sistemas de alimentación más utilizados, como el NRC (que es la base del programa de racionamiento utilizado en esta tesis), no contemplan la naturaleza de la energía contenida en los alimentos para determinar la eficiencia de uso de la misma en producción de leche. Es por eso necesario encarar ensayos de alimentación que determinen si la naturaleza de la energía es relevante para la producción de leche, sobre todo en condiciones pastoriles. La vasta mayoría de los ensayos en pastoreo no contempla el uso de tratamientos isoenergéticos, por lo que es sumamente difícil diferenciar el efecto del consumo de energía del efecto de la naturaleza de la energía.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar, tratamientos y animales experimentales.

El ensayo se realizó en el tambo de la Estación Experimental Agropecuaria del INTA de Balcarce en el período comprendido entre los meses de septiembre a diciembre de 2007. Se utilizaron 21 vacas multíparas Holando Argentino en el primer tercio de lactancia las que fueron asignadas a 4 grupos de 5-6 vacas homogéneos en cuanto a producción de leche (26 ± 5 litros/día) y días en lactancia (30 ± 10 días). La alimentación preparto (últimos 30 días de gestación) consistió en 4 kg de grano de maíz partido mezclados con 2 kg de expeller de girasol $\text{vaca}^{-1}.\text{día}^{-1}$, más heno de pastura y sales de preparto (Raciones Argentinas SRL. Composición: Cu 0,18%, Mg 3,5%, S 3,0%, Ca 10%, cloruros 30%, Se 15ppm, Co 5ppm, I 30ppm, Zn 1800ppm) ofrecidas a voluntad. Luego del parto, las vacas recibieron 7 kg de un peleteado comercial para vaca en ordeño (Composición: Maíz grano 43%, Pellet de girasol 16%, Pellet de soja 7%, Sojilla 8%, Afrechillo de trigo 21%, Conchilla 3,35%, NaCl 1,5%, Rumensín 0,05%, Núcleo vitamínico mineral 0,1%) y verdeo de avena ofrecido a razón de 10-15 kg MS.vaca⁻¹.día⁻¹, hasta octubre y luego 4 kg de peleteado comercial para vaca en ordeño más pastura perenne de *Dactylis glomerata* ofrecida a razón de 20 kg MS.vaca⁻¹.día⁻¹ de octubre en adelante El período comprendido entre los días 7 y 17 posparto fue utilizado para realizar las mediciones de covariable. A partir del día 30 ± 10 postparto se implementaron cuatro tratamientos que consistieron en el suministro de distintos niveles de grano de maíz partido y niveles de oferta de la pastura (T1 = 2 y 30,5, T2 = 4 y 27,0, T3 = 6 y 23,3 y T4 = 8 y 19,8 kg MS vaca⁻¹.día⁻¹ de maíz y pastura, respectivamente).

El objetivo fue obtener un consumo total de energía similar en los cuatro tratamientos pero con un mayor consumo teórico de energía glucogénica ante el

reemplazo de pastura por grano de maíz en la ración. El consumo teórico de pastura para cada nivel de grano de maíz ofrecido fue simulado utilizando el programa Ración (Fernandez y Guaita, 1989) a fines de satisfacer los requerimientos de una vaca multipara (3^a lactancia) de 560 kg de peso vivo, produciendo 25 litros.día⁻¹ de leche con una concentración grasa de 34 g.kg⁻¹ y sin modificaciones en el peso vivo (Cuadro 1). La oferta de pastura se ajustó asumiendo una eficiencia de cosecha del 57%, de acuerdo con las estimaciones previas obtenidas en tres mediciones grupales por tratamiento realizadas los días 7, 8 y 15 de Octubre. El valor nutritivo de la pastura y del grano de maíz fue definido en función al valor promedio de los análisis practicados sobre estos alimentos en la primavera del año anterior (Cuadro 2).

Cuadro 1. Consumos teóricos de materia seca (MS), de energía metabolizable (EM) y de proteína bruta (PB) necesarios para satisfacer los requerimientos de producción de una vaca de 560 kg produciendo 25 litros de leche con 34 g.kg de GB⁻¹.

	T 1	T 2	T 3	T 4
Pastura , (kg MS vaca ⁻¹ .día ⁻¹)	17,4	15,4	13,3	11,3
Maíz grano , (kg MS vaca ⁻¹ .día ⁻¹)	1,8	3,6	5,4	7,2
Total , (kg MS vaca ⁻¹ .día ⁻¹)	19,2	19	18,7	18,5
EM , (Mcal vaca ⁻¹ .día ⁻¹)	49,1	49,2	49,3	49,3
EM , (Mcal.MS de ración total ⁻¹)	2,56	2,59	2,64	2,66
PB , (kg vaca ⁻¹ .día ⁻¹)	2,79	2,66	2,52	2,39
PB , (g.100 g MS ⁻¹)	14,53	14,00	13,48	12,92

Según el programa utilizado y la composición química asumida para la pastura y el maíz (Cuadro 2) los requerimientos de proteína degradable en rumen (PDR) y no degradable (PNDR) se encontraban satisfechos y por lo tanto no se incluyó ningún

concentrado proteico de equilibrio en la ración final. Se suministraron además 200 g.vaca⁻¹.día⁻¹ de un suplemento mineral para vaca en lactancia (Raciones Argentinas S.R.L. Composición: Ca 15%, Mg 5%, Na 18%, Cl 27%, Zn 2250ppm, Cu 160ppm, Se 40ppm, Co 8ppm, I 48ppm, monensina sódica 1,5%).

Cuadro 2. Composición de los alimentos utilizados en el tambo durante la primavera de 2006, usada para formular las dietas del experimento.

Componentes	MO	DIVMS	PB*	FDN	FDA	CNES	Almidón
Pastura	90	70	15	51	30	13	-
Maíz grano	98	91	8	10	4	-	69

Todos los valores de la tabla están expresados como porcentaje de la materia seca. MO = materia orgánica. DIVMS = degradabilidad in vitro de la MS; PB = proteína bruta; FDN = fibra en detergente neutro; FDA = fibra en detergente ácido; CNES = carbohidratos no estructurales solubles. * Se consideró una degradabilidad ruminal de la PB de la pastura del 80% y del maíz del 60%. El muestreo de la pastura fue realizado simulando la altura de pastoreo.

El período de acostumbramiento a los tratamientos fue de 3 semanas y el experimental de 2 semanas. Debido a una distribución no sincronizada de las pariciones hubo dos períodos experimentales: 12 vacas recibieron su tratamiento desde el 6 de octubre hasta el 9 de noviembre, y las 9 vacas restantes lo recibieron desde el 19 de noviembre hasta el 21 de diciembre. En el primer período se distribuyeron 4 vacas en el T1 y 3 vacas en el T2, T3 y T4. Una vaca en el T2 debió ser eliminada por mastitis generada por una mala conformación de la ubre. En el segundo período se distribuyó 1 vaca en el T1, 3 vacas en el T2 y T3 y 2 vacas en el T4.

Se utilizó una pastura de 6 ha dominada por pasto ovillo (*Dactylis glomerata*) sembrada en 2006 y fertilizada con urea (67 kg N.ha⁻¹) la primer semana de septiembre. El pastoreo se realizó mediante el sistema de franjas diarias. Dentro de cada tratamiento las vacas pastorearon en grupo durante todo el período experimental y en parcelas individuales los días de medición de consumo de pastura.

3.2. Mediciones.

3.2.1. Composición química de los alimentos.

Se tomaron muestras representativas del concentrado comercial utilizado durante el período de covariable y del grano de maíz utilizado durante el período experimental. La pastura fue muestreada dos veces por día (8 y 17 h) semana de por medio a lo largo del ensayo, a través de la recolección manual de aproximadamente 0,5 kg a la altura del pastoreo y antes del ingreso de los animales, en forma general para todos los tratamientos. Las muestras de la pastura fueron congeladas hasta su secado en estufa con circulación de aire forzado a 60 °C durante 36 horas y molido en molino tipo Willey (malla de 1 mm). En el laboratorio se realizaron: determinaciones de materia seca (MS), materia orgánica (MO, mufla a 550-600 °C durante 4 horas), degradabilidad de la materia orgánica (DIVMO) con la técnica de producción de gas *in vitro* (Theodorou et al. 1994., modificada por Garciarena y Villalba, 2002), proteína bruta (PB) a través de la técnica de combustión total de la muestra en atmósfera con oxígeno ultrapuro (Horneck y Miller, 1998) con un analizador LECO FP-528, fibra en detergente neutro (FDN) y ácido (FDA) por la técnica de bolsas filtrantes (Komareck et al. 1993 y 1994) con un autoanalizador (ANKOM Corp., Fairport, NY, EE UU), extracto etéreo (EE) por la técnica de extracción con solventes en alta temperatura (AOCS, 2004) con un autoanalizador (ANKOM Corp. Faiport NY), almidón (sólo en el peleteado comercial y el grano de maíz) por el método enzimático modificado (Mc Rae y Armstrong, 1968), carbohidratos no estructurales solubles (CNES) con el método descrito por Morris (1948) y energía metabolizable, a partir de la DIVMO y con la siguiente fórmula:

$$EM (Mcal.kgMS^{-1}) = 4,4McalEB.kgMS^{-1} * 0,82 * DegIV$$

3.2.2. Biomasa aérea de la pastura.

La biomasa aérea inicial (previo al ingreso de los animales) y remanente (a la salida de los mismos) se estimó en forma indirecta una vez por semana a través de la relación entre la altura de la pastura y la cantidad de forraje disponible, utilizando un dispositivo de medición de altura denominado pasturómetro con 25 a 40 mediciones de altura por parcela de pastoreo. Una vez por semana se realizó la calibración del pasturómetro para la situación de biomasa inicial y remanente a través del corte y pesado de 6 muestras de 0,16 m² en las cuales también se registró la altura y se ajustaron las ecuaciones de regresión lineal simple para relacionar la altura con la biomasa aérea. Esa calibración se usó para el manejo de toda la semana siguiente.

3.2.3. Consumo.

El consumo individual de grano se estimó por medio de la diferencia entre lo ofrecido y el rechazo recolectado de las bateas en la sala de ordeño. El rechazo se midió dos veces por semana durante el período de acostumbramiento, y cinco veces por semana durante el período experimental.

El consumo de pastura se estimó en forma individual (por vaca). Se realizó dos veces por semana durante el período experimental (4 repeticiones por animal en total). Se utilizaron parcelas individuales de pastoreo de 24 horas en las cuales se estimó la biomasa inicial y remanente y se obtuvo el consumo (kg MS.vaca⁻¹.día⁻¹) como la diferencia entre las dos estimaciones realizadas. El consumo de energía metabolizable (EM) se estimó para cada vaca con la siguiente ecuación:

$$\text{ConsumoEM (Mcal / día)} = \text{ConsumoPastura} * [\text{EMpastura}] + \text{ConsumoGranoMaíz} * [\text{EMmaíz}]$$

El consumo de EN de lactación se calculó como el 64% de la energía metabolizable (NRC 2001) y el de energía glucogénica (EG) con las siguientes ecuaciones:

$$\text{ConsumoEG}(\text{McalENlact} / \text{día}) = \text{EGrumen} + \text{EGintestino}$$

$$\text{EGrumen} = (\text{MOF} * 9 * \% \text{C3}_{\text{rum}}) * 0,266$$

donde:

$$\text{EGintestino} = (\text{almidónID} * \text{dig.}) * 2,75$$

$$\text{almidónID} = \text{ConsumoMaíz} * \% \text{almidón} * \left(1 - \frac{\text{DegradRum}}{100}\right)$$

Egrumen = energía glucogénica en rumen, MOF = materia orgánica fermentable, %C_{3rum} = porcentaje de moles de propiónico en los AGV, EGintestino = energía glucogénica en intestino, almidónID = almidón en intestino delgado, dig = digestibilidad intestinal del almidón, DegradRum = degradabilidad ruminal del almidón.

Se consideró que la proporción de C₃ en rumen fue del 20%, que el grano de maíz tenía un contenido de almidón de 70g.100g MS⁻¹, que el almidón tenía una degradabilidad ruminal del 60% y una digestibilidad intestinal del almidón pasante del 80% (Huntington, 1997). La proporción de C₃ producido en rumen, la degradabilidad del almidón y la MOF aportada por cada alimento se estimaron en función de mediciones de concentraciones de AGV en el contenido ruminal y mediciones de degradabilidad *in situ* de vacas lecheras con dietas semejantes (Luparia, 2009).

Además se calculó el porcentaje de proteína bruta de la dieta de cada animal como el promedio ponderado del porcentaje de proteína de cada componente de la dieta.

3.2.4. Producción y composición de leche.

La producción diaria de leche se calculó a partir de la suma de lo producido por cada vaca en los 2 ordeños diarios (5.30 y 15.30 h). Se realizaron mediciones de producción de leche en los días 7 a 17 posparto para utilizar como covariable, y posteriormente durante la fase de acostumbramiento (3 veces por semana) y el período experimental (5 veces por semana). La concentración de GB, proteína, y lactosa en la leche fue determinada a partir de una muestra compuesta proveniente del ordeño de la mañana y de la tarde ponderado por la producción de cada ordeño utilizando un autoanalizador (Milko Scan 300, Foss Electric). La concentración de nitrógeno ureico en leche (Laboratorio Wiener, Rosario, Argentina) se determinó 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). Las muestras para composición de la leche fueron obtenidas durante los días 15, 16 y 17 posparto, una vez en el período de acostumbramiento y dos veces por semana durante el período experimental. La producción de leche grasa corregida (LGC) fue calculada utilizando la siguiente fórmula:

$$LGC(Kg.día^{-1}) = Leche(Kg.día^{-1}) * (0,4 + 0,6 * (0,25 * GB(g.kg^{-1})))$$

3.2.5. Peso vivo y condición corporal.

El peso vivo (PV) y la condición corporal (CC) de las vacas fueron medidas al comienzo y final de la fase experimental (35 días de diferencia) luego del ordeño de la mañana (7.00 h). La CC de las vacas se determinó por apreciación visual, utilizando una escala de 0 (muy delgada) a 5 (muy gorda, Bazin, 1984). La ganancia de peso y el

cambio de condición corporal se estimaron como la diferencia entre ambas mediciones.

3.2.6. Metabolitos sanguíneos.

Al final del ensayo y luego del ordeño de la mañana, se tomaron muestras de sangre por punción de vena yugular. La sangre fue colectada en tubos que contenían EDTA (0.342 mol/L, pH 7.2, Laboratorio Wiener, Rosario, Argentina) y el plasma fue obtenido por centrifugación (2000 x g por 15 minutos a 4 °C) y almacenado a -24 °C hasta los análisis de glucosa (Laboratorio Wiener, Rosario, Argentina), nitrógeno ureico plasmático (Laboratorio Wiener, Rosario, Argentina), y ácidos grasos no esterificados (Randox Laboratories Ltd., UK).

3.2.7. Balance de nutrientes.

El balance de nutrientes se realizó con el programa Ración (Fernandez y Guaita, 1989) con los valores de producción y composición de leche promedio y el consumo alcanzado por cada tratamiento.

3.3. Análisis estadístico.

La producción de leche, LGC, concentración de GB, proteína, lactosa y producción de sólidos (GB, proteína, lactosa) fue analizada mediante un modelo con covariable que contempló el efecto de la época (período octubre-noviembre ó noviembre-diciembre) y el tratamiento utilizando el procedimiento MIXED de S.A.S (1999). Se utilizó la sentencia random para contemplar el efecto aleatorio del animal como unidad

experimental y la sentencia repeated para contemplar la semana como variable repetida:

$$Y = \mu + \tau_i + \rho_j + \alpha_k + \tau\rho_{ij} + \rho\alpha_{jk} + \tau\alpha_{ik} + \tau\rho\alpha_{ijk} + \beta_l + e$$

Donde:

μ media general del ensayo

τ_i efecto del tratamiento

ρ_j efecto de la época

α_k efecto de la semana

$\tau\rho_{ij}$ interacción tratamiento época

$\rho\alpha_{jk}$ interacción época semana

$\tau\alpha_{ik}$ interacción tratamiento semana

$\tau\rho\alpha_{ijk}$ interacción tratamiento semana época

β_l efecto de la covariable

e error experimental

Para las variables biomasa aérea y oferta de pastura, consumo, ganancia de peso, cambio en la condición corporal, urea en leche y metabolitos sanguíneos se utilizó un modelo que contempló el efecto de la época y el tratamiento mediante el procedimiento GLM de S.A.S (1999):

$$Y = \mu + \tau_i + \rho_j + \tau\rho_{ij} + e$$

Donde:

μ media general del ensayo

τ_i efecto del tratamiento

ρ_j efecto de la época

$\tau\rho_{ij}$ interacción tratamiento época

e error experimental

La concentración de PB y FDN y la DIVMO de la pastura se analizaron con un modelo que contempló la fecha de muestreo (para detectar diferencias de calidad a los largo de la primavera) utilizando el procedimiento GLM del sistema S.A.S.

Las relaciones entre el consumo de energía glucogénica de cada tratamiento con la producción de leche y la concentración de grasa y proteína se analizaron por regresión lineal, utilizando el procedimiento REG del sistema S.A.S.

4. RESULTADOS

4.1. Biomasa aérea, eficiencia de cosecha y oferta de pastura.

La superficie que se utilizó durante el período experimental fue previamente pastoreada en forma intensa por otro rodeo y los animales consumieron un rebrote de 34 ± 11 días. La biomasa aérea promedio inicial ($2082 \text{ kg MS.ha}^{-1}$) y final ($1014 \text{ kg MS.ha}^{-1}$) no difirieron entre tratamientos.

La eficiencia de cosecha de la pastura resultó diferente entre tratamientos, y fue menor en T1 en comparación con T4 (Cuadro 3). La eficiencia de cosecha promedio lograda fue 50,5% y fue 6,5 puntos porcentuales menor a la oferta planeada (57%), por lo que el consumo de pastura fue menor al esperado (ver más adelante). La oferta de pastura difirió entre tratamientos no contiguos (Cuadro 3). La oferta fue menor a la oferta objetivo en T1 y T2 en $0,13$ y $0,62 \text{ kg.vaca}^{-1}.\text{día}^{-1}$ y mayor en T3 y T4 en $0,37$ y $0,28 \text{ kg.vaca}^{-1}.\text{día}^{-1}$ respectivamente, lo que representó una diferencia de 0,4 a 2,3% entre las ofertas planeadas y las obtenidas.

Cuadro 3. Biomasa inicial y remanente, eficiencia de cosecha y oferta de cada tratamiento.

	T1	T2	T3	T4	EEM	P
Biomasa aérea	Kg.ha ⁻¹ de materia seca					
Inicial	2040	2029	2130	2129	118	0,88
Remanente	1052	988	1048	970	61	0,71
Ef. de cosecha (%)	47,7 b	50,0 ab	49,8 ab	54,3 a	1,57	0,044
Oferta de pastura, kg MS.vaca ⁻¹ .día ⁻¹	30,4 a	26,4 ab	23,7 bc	20,1 c	1,26	<0,0001

4.2. Composición química de los alimentos.

Los alimentos utilizados durante el período parto-experimento (verde de avena y peleteado comercial) tuvieron altos valores de DIVMO y de Proteína Bruta (>70 y 19% respectivamente, Cuadro 4). La digestibilidad y el contenido de FDN de la pastura utilizada durante el período experimental no difirieron a lo largo del tiempo ($p=0,25$ y $0,50$ para DIVMO y FDN) pero sí cambió su contenido de Proteína Bruta ($p<0,01$), el cual disminuyó desde octubre a diciembre (Figura 1). Tanto la composición química de la pastura como la del grano de maíz fueron semejantes a la composición química asumida al formular las dietas dentro de cada tratamiento (Cuadro 2) en cuanto a concentración de PB y FDN. La pastura tuvo concentraciones de PB y FDN superiores en 1,3 y 7,5 puntos porcentuales respectivamente a los valores utilizados para los cálculos preensayo, mientras que en el grano de maíz la concentración de PB fue mayor en 1 punto porcentual a la asumida al formular las dietas (Cuadro 2).

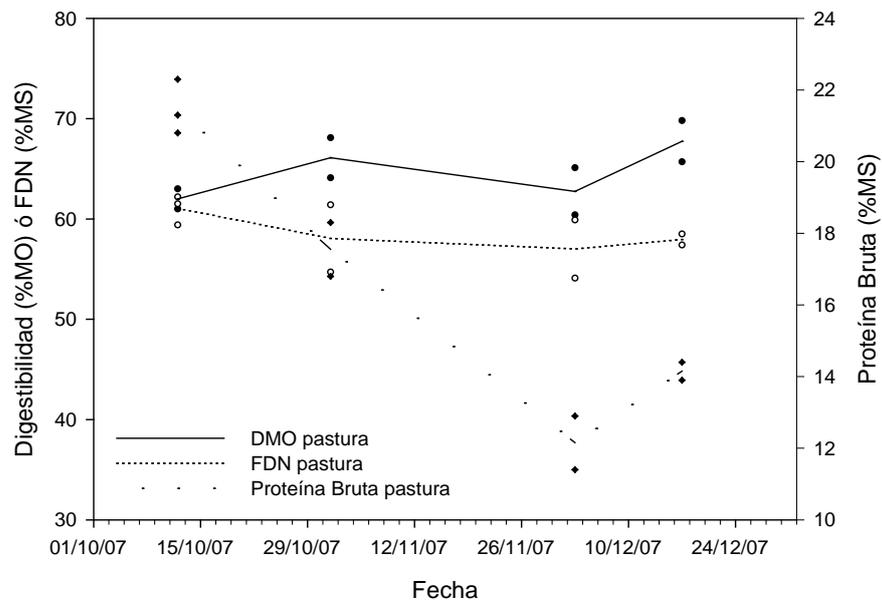


Figura 1. Digestibilidad y contenido de FDN y proteína bruta de la pastura en distintas fechas.

Cuadro 4. Composición química de los alimentos utilizados durante la fase preexperimental y experimental.

Componente*	Verdeo de avena	Peleteado comercial	Pastura	Grano de maíz
MS	20,3 ± 0,8	87,9 ± 0,1	26,8 ± 8,1	89,9 ± 1,1
MO	89,0 ± 0,7	94,5 ± 0,4	87,8 ± 1,7	98,8 ± 0,1
DIVMO	70,8 ± 5,0	80,8 ± 1,0	64,7 ± 2,7	83,7 ± 2,5
Mcal EM.kg MS⁻¹	2,55 ± 0,2	2,91 ± 0,1	2,33 ± 0,1	3,02 ± 0,1
PB	23,4 ± 2,5	19,3 ± 0,8	16,3 ± 4,1	9,0 ± 0,8
FDN	38,6 ± 2,4	20,9 ± 2,7	58,5 ± 1,7	10,9 ± 1,5
FDA	19,8 ± 0,9	8,4 ± 1,3	29,0 ± 0,5	2,3 ± 0,1
CNES	11,9 ± 2,0	19,1 ± 0,4	6,9 ± 0,3	17,1 ± 2,5
EE	2,9 ± 0,1	3,1 ± 0,3	3,2 ± 0,7	3,3 ± 0,2
Almidón	-	43,1 ± 5,8	-	69,4 ± 1,8

*Todos los componentes están expresados como % de la materia seca excepto MS=% de la materia verde, DIVMO=% de la materia orgánica.

4.3. Consumo.

El consumo de pastura resultó diferente entre los tratamientos T1 y T4, sin diferencias estadísticamente significativas en el resto de las comparaciones (Cuadro 5). El consumo estimado de pastura fue inferior al consumo planeado (Cuadro 1) en 2,91, 1,61, 1,36 y 0,39 kg MS.vaca⁻¹.día⁻¹ para T1, T2, T3 y T4, respectivamente, ya que las eficiencias de cosecha fueron inferiores a la planeada de 57%. La diferencia entre el consumo logrado y el planeado es mayor para los tratamientos con mayor asignación de pastura. El consumo de pastura el 2,99, 2,65, 2,30 y 2,15% del PV en T1, T2, T3 y T4, respectivamente.

El consumo de grano de maíz fue estadísticamente diferente entre todos los tratamientos. El consumo estimado de grano de maíz fue inferior al consumo planeado (Cuadro 1) en 0,07, 0,84, 1,11 y 1,53 kg MS.vaca⁻¹.día⁻¹ para T1, T2, T3 y T4, respectivamente. El consumo total promedio fue de 16,5 kg MS.vaca⁻¹.día⁻¹ y no hubo diferencias significativas entre tratamientos. El consumo estimado de materia seca total fue inferior al consumo planeado (Cuadro 1) en 2,98, 2,45, 2,47 y 1,91 kg MS.vaca⁻¹.día⁻¹ para T1, T2, T3 y T4, respectivamente. El consumo de materia seca total representó el 3,35, 3,18, 3,12 y 3,29% del PV en T1, T2, T3 y T4, respectivamente.

El consumo de energía promedio estimado fue 40,8 Mcal EM.vaca⁻¹.día⁻¹ y no hubo diferencias entre tratamientos (Cuadro 5), valor que fue inferior al consumo de energía planeado (Cuadro 1) en 8,4 Mcal EM.vaca⁻¹.día⁻¹. El consumo de energía calculado como EN de lactación fue en promedio de 26 Mcal.vaca⁻¹.día⁻¹ y el consumo de energía glucogénica (PG) fue estadísticamente diferente entre tratamientos no contiguos. La máxima diferencia fue de 1,81 Mcal ENlactación.vaca⁻¹.día⁻¹ entre T1 y T4. La concentración de proteína cruda en la materia seca total estimada promedio fue

de 15,2 g.100g⁻¹ y hubo diferencias entre tratamientos, con valores mayores en las dietas con mayor proporción de pastura.

Cuadro 5. Consumo de pastura, grano de maíz y total en materia seca, consumo de energía total y glucogénica y concentración de proteína en la ración total de vacas en pastoreo y en lactancia temprana suplementadas con 2 (T1), 4 (T2), 6 (T3) y 8 (T4) kg de grano de maíz.

	T1	T2	T3	T4	EEM	P
	Kg MS vaca ⁻¹ .día ⁻¹					
Pastura	14,49 a	13,79 ab	11,94 ab	10,91 b	0,88	0,022
Grano de maíz	1,73 d	2,76 c	4,29 b	5,67 a	0,32	<0,0001
Total	16,22	16,55	16,23	16,59	0,91	0,97
Energía						
(Mcal EM.vaca ⁻¹ .día ⁻¹)	38,9	40,4	40,7	42,2	2,2	0,68
(Mcal ENlact.vaca ⁻¹ .día ⁻¹)	24,9	25,9	26,0	27,0	1,4	0,68
Consumo de PG ⁽¹⁾	4,75 b	4,92 b	5,71 ab	6,56 a	0,29	<0,0006
Proteína Bruta (g.100g ⁻¹)	15,6 a	15,2 ab	14,5 b	14,0 c	0,15	<0,0001

Letras distintas dentro de la misma fila indican diferencias significativas con el test de Tukey con un $p=0,05$. ⁽¹⁾ PG = consumo de energía glucogénica Mcal ENlac.vaca⁻¹.día⁻¹

4.4. Producción y composición de la leche.

No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 6) en la producción de leche (19,8 kg.vaca⁻¹.día⁻¹) y de leche corregida al 4% de GB (17,4 kg.vaca⁻¹.día⁻¹). La concentración proteica promedio fue de 28,2 g.kg leche⁻¹ sin diferencias entre tratamientos. T1 presentó una concentración proteica superior no significativa (+1,2 g.kg leche⁻¹) en relación al resto de los tratamientos. La concentración promedio de GB fue de 32,3 g.kg leche⁻¹ resultando inferior en las vacas

de T2 respecto a T1. En T1 se observó una concentración superior de GB (2 g.kg^{-1} leche $^{-1}$) en comparación con T3 y T4, pero esta diferencia no fue significativa. La concentración promedio de lactosa fue de $46,9 \text{ g.kg}^{-1}$ de leche $^{-1}$ y se detectó interacción entre tratamiento y época. Dicha interacción estuvo explicada por una baja concentración de lactosa en una vaca de T1 en la primavera tardía (Figura 2). Sin embargo no hubo diferencias entre el resto de los tratamientos ni entre T1 en la primavera temprana con el resto de los tratamientos. La concentración promedio de urea en leche fue de $31,3 \text{ mg.dl}^{-1}$ y no hubo diferencias entre tratamientos.

La producción de sólidos lácteos totales promedio fue de $2084 \text{ g.vaca}^{-1}.\text{día}^{-1}$ y de 1199 g de sólidos útiles. $\text{vaca}^{-1}.\text{día}^{-1}$ (Cuadro 6). No hubo diferencias en la producción de lactosa, GB y proteína entre tratamientos.

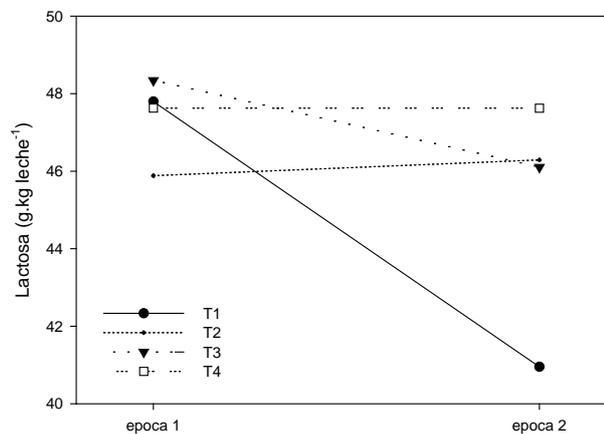


Figura 2. Concentración de lactosa en cada tratamiento en distintas épocas.

Cuadro 6. Producción y composición de la leche en vacas en pastoreo y en lactancia temprana suplementadas con 2 (T1), 4 (T2), 6 (T3) y 8 (T4) kg de grano de maíz.

	T1	T2	T3	T4	EEM	P
Leche (kg vaca ⁻¹ .día ⁻¹)	20,0	19,4	18,7	19,3	1,61	0,93
LGC (kg vaca ⁻¹ día ⁻¹)	18,8	16,5	16,5	17,1	1,36	0,56
Proteína (g kg leche ⁻¹)	29,0	27,6	27,8	27,7	0,55	0,27
Grasa (g kg leche ⁻¹)	35,2 a	29,2 b	32,8 ab	33,2 ab	1,20	0,024
Lactosa (g kg leche ⁻¹)	44,4	46,1	47,2	47,6	0,57	-
Urea (mg.dl ⁻¹)	30,9	31,5	29,4	32,3	1,02	0,11
Proteína (g.vaca ⁻¹ .día ⁻¹)	585	552	522	530	49	0,75
GB (g.vaca ⁻¹ .día ⁻¹)	719	578	608	635	52	0,24
Lactosa (g.vaca ⁻¹ .día ⁻¹)	896	909	886	918	79	0,98
Sólidos totales (g.vaca ⁻¹ .día ⁻¹)	2197	2055	2004	2085	168	0,83
Sólidos útiles (g.vaca ⁻¹ .día ⁻¹)	1303	1138	1124	1166	94	0,47

Letras distintas dentro de la misma fila indican diferencias significativas con el test de Tukey con un $p=0,05$

Las funciones de ajuste practicadas entre el consumo de EG de cada tratamiento con la producción de leche y con la concentración proteica y de GB de la leche no fueron significativas.

4.5. Peso vivo y condición corporal.

El peso vivo inicial y final promedio de las vacas fue de 482 y 533 kg, respectivamente y no hubo diferencias entre tratamientos (Cuadro 7). La ganancia de peso vivo promedio fue 1,49 kg.vaca⁻¹.día⁻¹ y no difirió entre tratamientos. La condición corporal inicial y final promedio fue 1,52 y 1,5. No hubo diferencias en CC inicial pero

sí en la CC final, en donde T1 fue superior a T2 y T3. No obstante esto el cambio en la condición corporal fue biológicamente despreciable (0,05 puntos) y no difirió entre tratamientos. La CC registrada con la escala de 0 a 5 utilizada (Bazin, 1984) sería equivalente a una CC de 2,25 a 2,5 en la escala americana de 1 a 5 (Edmonson et al, 1989) que es más utilizada en el país. No hay comparaciones directas entre ambas escalas, pero sí entre otra escala de 0 a 5 utilizada en el Reino Unido y la escala americana de 1 a 5 (Bewley, et al, 2009).

Cuadro 7. Peso vivo y condición corporal de vacas en pastoreo y en lactancia temprana suplementadas con 2 (T1), 4 (T2), 6 (T3) y 8 (T4) kg de grano de maíz.

	T1	T2	T3	T4	EEM	P
Peso inicial (kg.vaca ⁻¹)	455	499	493	483	20,7	0,45
Peso final (kg.vaca ⁻¹)	514	543	546	524	20,7	0,64
ADPV (kg.vaca ⁻¹ .día ⁻¹)	1,69	1,35	1,63	1,218	0,378	0,74
CC inicial	1,70	1,30	1,58	1,50	0,18	0,48
CC final	1,90 a	1,40 b	1,50 b	1,50 ab	0,10	0,015
CC final – inicial	0,20	0,10	-0,08	0	0,21	0,77

Letras distintas dentro de la misma fila indican diferencias significativas con el test de Tukey con un $p=0,05$

4.6. Metabolitos sanguíneos.

La concentración promedio de glucosa en sangre fue de 64 mg.dl⁻¹ y no hubo diferencias entre tratamientos, aunque existió una tendencia ($P < 0,10$) a menor glucemia en T1 (Cuadro 8). No hubo diferencia entre tratamientos en la uremia y en la concentración de ácidos grasos no esterificados (AGNE), siendo sus promedios de 18,6 mg.dl⁻¹ y de 545 mEq.litro⁻¹, respectivamente.

Cuadro 8. Concentración plasmática de glucosa, urea y ácidos grasos no esterificados (AGNE) en vacas en pastoreo y en lactancia temprana suplementadas con 2 (T1), 4 (T2), 6 (T3) y 8 (T4) kg de grano de maíz.

	T1	T2	T3	T4	EEM	P
Glucosa						
mg.dl ⁻¹	60,8	65,9	68,7	64,9	2,3	0,09
Urea						
mg.dl ⁻¹	19,0	17,5	18,3	18,9	1,7	0,88
AGNE						
mEq.litro ⁻¹	533	522	551	502	54	0,89

4.7. Balance de nutrientes.

El consumo total estimado de EM resultó inferior al requerimiento de predicción (programa Ración. Fernandez y Guaita, 1989) utilizando los datos de peso vivo y la producción alcanzada (Cuadro 9). El déficit fue máximo en T1 y mínimo en T4. El consumo total de materia seca en todos los tratamientos resultó semejante al requerimiento teórico estimado y se cubrieron ampliamente los requerimientos de FDN, PB y PDR. El consumo estimado de PND fue suficiente para cubrir el requerimiento estimado. Estos cálculos fueron realizados sin considerar cambios en el peso vivo, y para equiparar las diferencias de energía metabolizable requerida y consumida, los animales deberían haber movilizad 650, 300 y 200 g.día⁻¹ en los tratamientos T1, T2 y T3 respectivamente, y tener una ganancia de peso de 200 g.día⁻¹ en T4. En caso de utilizar la ADPV registrada en cada tratamiento, el requerimiento promedio de EM es de 53 Mcal.vaca⁻¹.día⁻¹, y el déficit entre la energía consumida y requerida es de 12,2 Mcal.vaca⁻¹.día⁻¹ para el promedio de los tratamientos.

Cuadro 9. Balance de nutrientes en vacas en pastoreo y en lactancia temprana suplementadas con 2 (T1), 4 (T2), 6 (T3) y 8 (T4) kg de grano de maíz.

Componente	Requerimientos	T1	T2	T3	T4
	promedio*	(consumo – requerimientos)			
EM Mcal.día ⁻¹	42,5	-5,5	-2,4	-0,8	1,4
	kg.día ⁻¹				
MS	16,48	-0,64	0,40	-0,07	-0,08
FDN	6,15	2,51	2,25	1,30	0,80
PB	1,98	0,45	0,58	0,39	0,30
PDR	1,24	0,70	0,74	0,56	0,50
PND	0,42	0,03	0,19	0,15	0,13

* Los requerimientos fueron calculados con el programa Ración

5. DISCUSIÓN

El ensayo fue diseñado a fines de comparar la respuesta productiva y la variación en la concentración de sólidos útiles de la leche ante variaciones en la disponibilidad de energía glucogénica manteniendo constante el consumo total de energía de la vaca. En este contexto, la diferencia máxima estimada fue de 1,81 Mcal ENlactación.vaca⁻¹.día⁻¹ entre los niveles extremos de consumo de grano de maíz (T1 y T4). La energía glucogénica representó entre el 18,8 y el 23,9% de la energía total consumida consumida por la vaca.

Según Kronfeld (1976), la máxima eficiencia en la producción de leche se obtendría cuando la energía metabolizable total está representada por un 16% bajo la forma de precursores aminogénicos, un 5% de glucosa exógena, un 24% de propionato, un 39% de derivados de los ácidos acético y butírico y un 16% proveniente de ácidos grasos de cadena larga exógenos. En consecuencia, la contribución ideal de energía glucogénica (glucosa exógena más propionato) parecería situarse en alrededor del 29%. Estudios más recientes con infusiones y vacas lecheras afectadas por 30 años de selección parecen validar esta información. La estimación practicada por Rigout et al (2003) indicó que la máxima respuesta en leche se obtendría cuando la vaca dispone de 8-10 Mcal de ENI por día bajo la forma de precursores glucogénicos con una energía total consumida cercana a los 30-32 Mcal ENlactación.vaca⁻¹.día⁻¹. De acuerdo a estos datos, la proporción óptima de energía glucogénica estaría en el rango de 25-30% de la energía total consumida. En el presente trabajo, los tratamientos con mayor consumo de grano estuvieron más cerca de alcanzar la proporción adecuada de energía glucogénica pero no fue posible detectar diferencias en la producción de leche o cambios en la composición química de la misma (Cuadro 6). Este resultado sugiere que tanto la disponibilidad de ácido propiónico como la de glucosa parecen no haber sido nutrientes limitantes para la

producción. Una hipótesis capaz de explicar en parte la falta de respuesta sería que el plano nutricional y productivo alcanzado por los animales del ensayo fue menor (26 Mcal ENlactación.vaca⁻¹.día⁻¹ de consumo y 20 kg de leche.vaca⁻¹.día⁻¹) al obtenido en los animales de los ensayos evaluados por Rigout et al (2003), y en consecuencia la proporción óptima de PG podría ser menor. En los experimentos revisados por los autores mencionados los animales produjeron de 25 a 40 kg de leche.vaca⁻¹.día⁻¹, con un consumo de energía de 30 a 32 Mcal ENlactación.vaca⁻¹.día⁻¹.

Cabe destacar que los niveles de producción alcanzados resultaron consistentes con el nivel de consumo de energía estimado y el balance energético calculado (Cuadro 9). Es probable que el nivel de producción alcanzado haya estado limitado por la capacidad de consumo de las vacas y la ausencia de incrementos en el consumo de pastura impuesto por los tratamientos según el consumo esperado de grano de maíz.

La degradabilidad *in vitro* promedio de la pastura (64,7 g.100 g MO⁻¹) fue aceptable, pero el contenido de FDN promedio de la misma fue elevado (58,5 g.100 g MS⁻¹) y esto puede haber limitado el consumo de pastura dentro de los niveles de biomasa y oferta utilizados. Mertens (1987) indicó que el consumo máximo de FDN estaría cercano al 1,3% del peso vivo y con los niveles de FDN registrados en la pastura esto permitiría un consumo máximo de pastura de 12,2 kg MS.animal⁻¹.día⁻¹. Las vacas con menor nivel de grano consumido (T1) alcanzaron un consumo estimado de pastura del orden de 14,5 kg MS.animal⁻¹.día⁻¹, que resulta alto si lo comparamos al propuesto por Mertens (1987), pero inferior al consumo buscado de 17,4 kg MS.animal⁻¹.día⁻¹. Es posible entonces que el contenido de FDN de la pastura, haya limitado el consumo.

El consumo del grano ofrecido en la sala de ordeño sólo fue igual al planeado en T1, donde las vacas consumieron 1 kg de grano de maíz en cada ordeño. En el resto

de los tratamientos se registró un rechazo de 21-23% de la cantidad total ofrecida. En ensayos previos realizados en el mismo tambo y con vacas semejantes no se registraron rechazos de alimento incluso cuando la oferta fue de 8 kg de grano de maíz.vaca⁻¹.día⁻¹ ofrecidos por mitades durante el ordeño (Luparia, 2009). En un ensayo realizado en Rafaela con vacas lecheras pastoreando alfalfa (Castillo et al. 1993), el rechazo de grano de maíz molido fue semejante y cercano a 20-22 % en tratamientos con 3, 6 y 9 kg de maíz.día⁻¹. Los autores indican que el rechazo de grano se produjo en la sala de ordeño, mientras que el grano ofrecido en la franja de pastoreo al tratamiento con mayor nivel de suplementación fue consumido en su totalidad. Una explicación posible en el presente experimento es que los animales hayan regulado su consumo para evitar la acidosis, a pesar de que se haya registrado rechazo de grano aún con consumos tan bajos como 4 kg de grano de maíz.vaca⁻¹.día⁻¹. Animales con experiencia en el consumo de concentrado pueden evitar consumir grandes cantidades de grano en períodos cortos para evitar problemas postingestivos. Cuando los animales son forzados a comer raciones que exceden su tolerancia a cierto componente (grano), los mismos reducen el consumo antes de sufrir consecuencias negativas como la acidocis (Phy y Provenza, 1998. en Atwood et al. 2001).

Los resultados productivos del presente ensayo pueden compararse con los ensayos de relación forraje:concentrado, en los cuales dietas contrastantes implican fuentes energéticas de naturaleza diferente. En un ensayo realizado en la década del 60' no se encontraron diferencias en la producción de leche entre relaciones 50:50 y 10:90 (heno:concentrado. Flatt et al, 1969) mientras que un experimento posterior que trabajó con vaquillonas, registró un 25-30% más de producción de leche con dietas con mayor proporción de concentrados (Broster et al, 1985). La comparación de los resultados del ensayo con los obtenidos por estos autores debe realizarse con

precaución, ya que los mismos trabajaron con relaciones forraje:concentrado entre 50:50 y 10:90 mientras que el rango utilizado en el ensayo fue de 87:13 y 60:40, es decir que el componente fibroso representó la mayor proporción en términos energía consumida en todos los tratamientos. Además estos trabajos fueron realizados en condiciones de estabulación. Publicaciones más recientes en pastoreo que trabajaron con dietas que combinaron proporciones diferentes de pastura y TMR (ración totalmente mezclada), intentaron determinar diferencias productivas entre dietas más o menos fibrosas (Bargo et al, 2002. Soriano et al, 2001. Vidart et al, 2008). Sin embargo, en estos experimentos los tratamientos no tuvieron consumos isoenergéticos, y el desempeño productivo de las vacas estuvo directa y positivamente relacionado al consumo de materia seca y energía de cada tratamiento.

La información disponible de la mayoría de los ensayos de suplementación en pastoreo no es fácilmente comparable con los resultados obtenidos en el experimento realizado, ya que en general en ellos se utilizan diferentes niveles de suplementación con una oferta similar ó constante de pastura. En tales ensayos la tasa de sustitución de forraje por concentrado rara vez es mayor a 0,8 y casi siempre hay un aumento en el consumo de materia seca y energía asociada a la suplementación (Leaver, 1986. Bargo et al. 2003). En el experimento realizado en esta tesis eso no ocurrió y la tasa de sustitución generada a partir de ofertas diferentes fue de 1,05 kg de pastura.kg de grano de maíz⁻¹. Muchos autores, a partir de Leaver (1968), aseveraron que la respuesta en producción de leche es baja ó incluso nula con altas tasas de sustitución. Stockdale (2000) desarrolló una ecuación de regresión múltiple a partir de ensayos realizados en Victoria (Australia) que relaciona la respuesta marginal en producción de leche (RM) a la suplementación con la tasa de sustitución (TS), la época del año y la condición corporal de las vacas (CC). Una TS = 1 genera una RM = 0 durante la primavera y con vacas con CC media. Bargo et al (2003) desarrollaron una ecuación

de regresión simple entre RM y TS, con la cual una TS = 1 genera una RM en producción de leche negativa (-0.3 kg de leche.kg de suplemento⁻¹).

Otro factor que puede haber influido en la ausencia de respuesta productiva al incremento en el consumo de energía glucogénica es la partición de energía entre producción de leche y reservas corporales. Cada kg de reserva corporal movilizada genera energía suficiente para producir 7-8 litros de leche, según cálculos hechos con el programa Ración (Fernandez y Guaita, 1989). Los cambios en el peso vivo y la condición corporal registrados en el ensayo son contradictorios. La diferencia entre el peso vivo inicial y final (51 kg) fue importante en todos los tratamientos, y determinó altas ganancias de peso vivo (1,5 kg.vaca⁻¹.día⁻¹) difíciles de encontrar en vacas lecheras en inicios de lactancia. Sin embargo no se detectaron cambios en la condición corporal entre el inicio y fin del experimento, y las concentraciones de AGNE (500 Meq.litro⁻¹, Cuadro 8) registradas son aceptables para vacas lecheras en lactancia temprana con una moderada movilización. Los valores de ganancia de peso obtenidos deben ser tomados con precaución, ya que el período entre pesadas fue corto (35 días) y gran parte de la diferencia en el peso vivo puede deberse a diferencias en el contenido del tracto digestivo. El aparato digestivo se encuentra en plena evolución en inicios de lactancia, por lo que es posible encontrar diferencias en el llenado aún cuando la calidad y cantidad de la pastura se mantienen constantes. En general, los cambios en el peso vivo en vacas en inicio de lactancia enmascaran reales pérdidas de peso. Remond (1988) calculó que el peso del retículo y rumen aumentó en vacas lecheras más del 40% en los 2 primeros meses después del parto. Por otro lado, de acuerdo a los balances energéticos calculados las vacas debieron realizar una moderada movilización de reservas corporales para cubrir los requerimientos de mantenimiento y producción (238 g PV.vaca⁻¹.día⁻¹ en promedio). Por lo tanto posibles diferencias en la movilización de reservas entre tratamientos

pueden haber quedado enmascaradas en la determinación del cambio de peso vivo debido al importante efecto del llenado del tracto digestivo.

Un fenómeno que podría haber afectado la provisión de energía aportada por las dietas en los diferentes tratamientos es el efecto negativo de los CHS contenidos en el grano de maíz sobre la degradación ruminal de la FDN. La presencia en el rumen de una gran cantidad de carbohidratos rápidamente fermentables puede afectar negativamente la tasa de degradación de la fibra del forraje (Dixon y Stockdale, 1999). Este efecto podría ser mayor en los tratamientos con mayor consumo de grano, y puede estar exacerbado por la forma de suministro utilizada en el ensayo, es decir en la sala de ordeño y justo antes de las sesiones de máximo consumo de pasto del amanecer y atardecer. Luparia (2009) encontró una diferencia no significativa de 2 puntos porcentuales en la degradabilidad in sacco de la FDN de la pastura entre 4 y 8 kg de grano de maíz.vaca⁻¹.día⁻¹, con dietas y animales similares. Van Vuuren et al (1993) estimaron una caída de 5 puntos en la degradabilidad ruminal de la FDN al reemplazar parcialmente raigrás fresco con un suplemento a base de grano de maíz, y un cambio en el sitio de degradación de parte de la materia orgánica del rumen al intestino. Este dato no es menor, ya que cada punto de caída en la digestibilidad total de la pastura disminuiría el ingreso de energía metabolizable en T4 en 0,391 Mcal.vaca⁻¹.día⁻¹, el cual alcanza para producir 0,380 litros de leche.vaca⁻¹.día⁻¹. Es decir que pequeñas modificaciones en la digestibilidad de la pastura, que es el componente principal en todos los tratamientos, pueden generar diferencias importantes en la cantidad de energía metabolizable y de esta manera afectar la respuesta productiva a una mayor proporción de energía glucogénica.

Por otra parte, una menor degradabilidad de la FDN de la pastura implica una menor cantidad de MOF y por lo tanto una menor producción de proteína microbiana. Se mencionó anteriormente que Kronfeld (1976) indicó que para lograr una máxima

eficiencia de utilización de la energía en producción de leche, un 16% de la energía metabolizable debe estar en forma de precursores aminogénicos. Además es importante recordar que los aminoácidos sirven como precursores de energía (a través de la gluconeogénesis hepática) y como sustratos energéticos, y es imposible separar la energía, que no es un nutriente per se, de la proteína (Reynolds et al. 1994). Cada punto de caída en la degradabilidad de la fibra implicaría en el T4 una disminución de 46 g MOF y por consiguiente una menor producción de proteína microbiana. Considerando una eficiencia de crecimiento microbiano de 25% a partir de la MOF (Sutton, 1985) y una digestibilidad intestinal de la proteína microbiana del 80%, habría una disminución de $9,15 \text{ g.día}^{-1}$ de proteína microbiana digestible en intestino por cada punto de caída en la degradabilidad de la fibra. El consumo de MOF (sin considerar cambios en la degradabilidad de la fibra de la pastura) fue similar para todos los tratamientos y cercano a $8 \text{ kg.vaca}^{-1}.\text{día}^{-1}$. Por lo tanto posibles diferencias en la producción de proteína microbiana entre tratamientos están supeditadas a diferencias en la degradabilidad de la pastura ó en la eficiencia de crecimiento microbiano. El efecto de la relación forraje:concentrado sobre la eficiencia de crecimiento microbiano no es claro (Clark et al. 1992). Tamminga (1981, en Clark et al. 1992) alimentó vacas con diferente relación forraje:concentrado y concluyó que esta relación no tuvo efecto en la eficiencia de síntesis microbiana, mientras que Van Vuuren et al (1993) encontraron que la eficiencia era mayor al sustituir parcialmente forraje fresco de alta calidad con grano de maíz quebrado. Con respecto a los requerimientos de N por parte de los microbios ruminales, en todos los tratamientos del ensayo la cantidad estimada de proteína degradable en rumen fue suficiente (Cuadro 9), y esto puede verificarse con los altos valores de urea registrados tanto en sangre como en leche (Cuadros 8 y 6 respectivamente).

Las pérdidas de energía debidas a una insuficiente digestión del almidón pueden ser altas en granos con almidones de baja degradabilidad ruminal (Huntington, 1997), como el grano de maíz utilizado en este ensayo. Owens et al (1986) calculó que el aprovechamiento teórico del almidón es un 42% más eficiente en intestino en comparación con la fermentación ruminal, e indicó que para que haya una mayor eficiencia de uso de la energía la digestibilidad intestinal del almidón pasante debe superar el 70%. En rumiantes, la absorción intestinal de glucosa está limitada por la capacidad del intestino delgado para hidrolizar almidón. Hurtaud et al (2000) indicaron que el intestino de la vaca lechera puede hidrolizar hasta 5 kg de almidón gelatinizado, mientras que Reynolds et al (1994) indicaron que con infusiones continuas en duodeno, las vacas lactantes son capaces de digerir al menos 2 kg de almidón.día⁻¹. El consumo diario máximo de grano de maíz en el experimento fue de 5,6 kg en T4, y con esta cantidad el almidón pasante no superaría los 1,5 kg diarios. Es improbable entonces que haya habido una limitante en la capacidad del intestino para digerir el almidón. Incluso una mayor disponibilidad de glucosa a nivel intestinal puede haber estado relacionada con la tendencia a mayor concentración de glucosa en sangre (P=0,09) en los tratamientos con mayor proporción de grano en la dieta.

Con respecto a la concentración de sólidos, si bien no hubo diferencias significativas entre tratamientos (excepto por la baja concentración de GB en T2), T1 tuvo numéricamente una mayor concentración de proteína y GB. Estos resultados difieren a los hallados en la revisión de Rigout et al (2003) en la cual un incremento en la proporción de precursores glucogénicos de 13 a 39% de la energía total generó un incremento en la concentración de proteína de la leche de 2,8 g.litro⁻¹ y una disminución en la concentración de GB de 11,2 g.litro⁻¹. También en aquellos ensayos que midieron el efecto de la relación forraje:concentrado (Flatt et al. 1969. Broster et al. 1985) ó los de suplementación en pastoreo (Bargo et al. 2003), un incremento en la

concentración de proteína fue acompañado con una caída en la concentración de GB, en función del efecto antagónico que tiene el aumento proporcional de precursores glucogénicos sobre los lipogénicos. La falta de respuesta en la concentración de sólidos al modificar la naturaleza de la energía puede deberse a algunos de los factores mencionados anteriormente, es decir diferencias en la cantidad de energía metabolizada por diferencias en la digestibilidad de la fibra, y diferencias en la disponibilidad de precursores aminogénicos entre tratamientos. En la información obtenida a partir de infusiones de glucosa y ácido propiónico, las dietas generadas fueron isoproteicas y para compensar el ingreso de energía glucogénica, en los tratamientos control se infundieron mezclas de AGV para generar dietas isoenergéticas. Bajo estas condiciones la disponibilidad de precursores aminogénicos se mantiene relativamente constante. En el presente ensayo la naturaleza de la energía se modificó con componentes directos de la dieta y no con infusiones, y bajo estas condiciones es probable que existan cambios en la disponibilidad de precursores aminogénicos entre tratamientos. Esto aplica tanto a la producción de proteína microbiana como a la cantidad de PND que es absorbida en el intestino delgado, aunque de acuerdo al balance energético realizado, no hubo deficiencias en la cantidad de PND en ninguno de los tratamientos (Cuadro 9).

En función de los elementos expuestos parece difícil que exista una mejora en la eficiencia de utilización de la energía para producción de leche y proteína con el aumento de la participación de grano de maíz en vacas en pastoreo. Sin embargo, estos resultados no implican que la práctica de suplementación con granos en vacas lecheras en lactancia temprana sea inconveniente. La suplementación con granos tiene que tener como objetivo aumentar el consumo de nutrientes digestibles, sin esperar necesariamente un uso más eficiente de los mismos. El aumento del consumo total permite disponer de una mayor cantidad de nutrientes, y en función del aumento

de las tasas de pasaje, permite mejorar la relación C2/C3 (Sutton, 1985) y aumentar la producción de proteína microbiana disponible en intestino (Clark, 1992). Estos factores inciden positivamente tanto en la producción de leche como en la composición proteica de la misma.

6. CONCLUSIONES

La hipótesis planteada fue que el aporte creciente de energía glucogénica en forma de grano de maíz en la dieta permite aumentar la producción de leche y concentración de proteína en condiciones pastoriles, a igual consumo total de energía. Dentro del rango de energía glucogénica alcanzado en el ensayo (18,8 a 23,9% de la energía total), la hipótesis planteada no se cumplió, para vacas consumiendo 26 Mcal ENlactación.día⁻¹. El consumo de 4,5 Mcal de ENlactación.vaca⁻¹.día⁻¹ estimado en el tratamiento con menor cantidad de grano de maíz (T1) fue suficiente para asegurar la producción de 20 kg de leche.vaca⁻¹.día⁻¹ y una concentración proteica de 29 g.kg⁻¹. Esto implica que no se obtuvo una mayor eficiencia en el aprovechamiento de la energía digestible para la producción de leche con la inclusión de grano de maíz en reemplazo de la pastura. Posibles causas de la falta de respuesta son el moderado nivel de producción de las vacas, diferencias en la cantidad de reservas movilizadas entre tratamientos (las cuales no pudieron detectarse en el ensayo), diferencias en la digestión de la FDN por la inclusión de una mayor proporción de grano en la dieta, y diferencias en la disponibilidad de precursores aminogénicos entre tratamientos.

7. BIBLIOGRAFÍA

- AGNEW, R.E.; YAN, T. 2000. Impact of recent research on energy feeding systems for dairy cattle. Review article. *Livestock Production Science* 66, 197-215.
- AOCS. 2004. Sampling and analysis of vegetable oil source materials. Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction procedure. AM 5-04. San José de Costa Rica. 3-20.
- ATWOOD, S. B.; PROVENZA, F. D.; WIEDMEIER, R. D.; BANNER, R. E. 2001. Influence of free-choice vs mixed-ration diets on food intake and performance of fattening calves. *Journal of Animal Science* 79:3034-3040.
- BARGO, F.; MULLER, L.D.; DELAHOY, J.E.; CASSIDY, T.W. 2002. Performance of High Producing Dairy Cows with Three Different Feeding Systems Combining Pasture and Total Mixed Rations. *Journal of Dairy Science*, 85: 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. *Journal of Dairy Science* 86:1-42.
- BAUMAN, D.E.; BRUCE CURRIE, W. 1980. Partitioning of Nutrients During Pregnancy and Lactation: A Review of Mechanisms Involving Homeostasis and Homeorhesis. *Journal of Dairy Science* 63:1514-1529.
- BAZIN, S. 1984. Grille de notation de l'état d'engraissement des vaches pie noires. Ed. ITEB, 149 rue de Bercy, 75595. Paris Cedex 12.
- BEEVER, D.E. 1993. Rumen Function. In: Forbes, J.M. y France, J. (Eds) *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism*. CAB International Oxford, RU. Pp 187-218.
- BEWLEY, J.M.; BOYCE, R.E.; ROBERTS, D.J.; COFFEY, M.P.; SCHUTE, M.M. 2009. Comparison of two methods of assessing dairy cow body condition score. *Journal of dairy research* 77, 95-98.
- BINES, J.A.; HART, I.C. 1982. Metabolic Limits to Milk Production, Especially Roles of Growth Hormone and Insulin. *Journal of Dairy Science* 65:1375-1389.
- BROSTER, W. H.; SUTTON, J. D.; BINES, J. A.; BROSTER, V. J.; SMITH, T.; SIVITER, J. W.; JOHNSON, V. W.; NAPPER, D. J.; SCHULLER, E. 1985. The influence of plane of nutrition and diet composition on the performance of dairy cows. *Journal of Agricultural Science (Camb.)*, 104:535.
- 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. *Journal of Dairy Research* 51 149-196.

- BRUINENBERG, M.H.; VAN DER HONING, Y.; AGNEW, R.E.; YAN, T.; VAN VUUREN, A.M.; VALK, H. 2002. Energy metabolism of dairy cows fed on grass. *Livestock production science* 75: 117-128.
- CASTILLO, A.A.; ROMERO, L.A.; COMERÓN, E.A.; GAGGIOTTI, M.C.; QUAINO, O.; CASTELLI, M.E. 1993. Suplementación de vacas lecheras en pastoreo de alfalfa con grano de maíz molido. Efectos inmediatos. EEA Inta Rafaela. Información para Extensión N° 110. pp. 7.
- CLARK, J.H. 1975. Lactational Responses to Postruminal Administration of Proteins and Amino Acids. *Journal of Dairy Science* 58 (8): 1178-1197.
- CLARK, J.H.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON M.R. 1992. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 75: 2304–2323.
- DILLON, P. 2006. Achieving high dry-matter intake from pasture in grazing dairy cows. In: A. Elgersma, J. Dijkstra and S. Tamminga (eds.), *Fresh Herbage for Dairy Cattle*: 1-26.
- DIXON, R. M.; STOCKDALE, C. R. 1999. Associative effects between forages and grains: consequences for feed utilization. *Australian Journal of Agricultural Research* 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. *Australian Journal of Agricultural Research* 56 (12): 1315–1329.
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 72: 68-78.
- FERNANDEZ, H.H.; GUAYTA, M.S. 1989. Programa para formular y evaluar raciones en vacas lecheras. *Revista Argentina de Producción Animal*. 9 supl. 1. pp.
- FLATT, W. P.; MOC, P. W.; MUNSON, A. W.; COOPER, T. 1969. Energy utilization by high producing dairy cows. H. Summary of energy balance experiments with lactating Holstein cows. En Blaxter, K. L. Thorbek, G. and Kielanowski, J. (Eds). *Energy metabolism of farm animals*. Oriel Press, Newcastle-upon-Tyne, Engl. pp 235.
- GAGLIOSTRO, G. 2000. Principios de nutrición y suplementación de bovinos en pastoreo. EEA Inta Balcarce, Área de Producción Animal. 108 p.
- GALLARDO, M. 2003. Alimentación y composición química de la leche. Inta Rafaela. *Mercoláctea* 2003. [En línea]
<http://www.inta.gov.ar/Rafaela/info/documentos/mercolactea2003/alimentacion_y_composicion_quimica_leche.pdf> [consulta:01/03/09]
- GARCIARENA, D.A.; VILLALBA, S.E. 2002. Producción de gas in vitro. Estimación de

- la degradabilidad de los alimentos para rumiantes. *Revista Argentina de Producción Animal*. 22 (Supl. 1):32.
- HOLMES, C.W. 1987. Pastures for dairy cows. In: Nicol, M. (Ed.) *Livestock Feeding on pasture*. New Zealand Society of Animal Production, Occasional Publ. N° 10. pp.133.
- HORNECK, D.A.; MILLER, R.O. 1998. Determination of total nitrogen in plant tissue. In: Kalra, Y.P. (ed). *Handbook of reference methods for plant analysis*. CRC Press, pp.75-83.
- HUNTINGTON, G.B. 1997. Starch utilization by ruminants: From basics to the bunk. *Journal of Animal Science* 75:852-867.
- HUNTINGTON, G.; RICHARDS, C. 2005. Metabolic Fate of Products of Starch Digestion and Absorption in Beef and Dairy Cattle. *Proceeding Southwest Nutrition. Conf.:* 67-77.
- 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. *Journal of Dairy Science*. 83:2952–2962.
- 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. *Journal of Dairy Science* 81:3239–3247.
- KELLAWAY, R.; HARRINGTON, T. 2004. *Feeding Concentrates, supplements for Dairy Cows*. Revised Edition. Landlinks Press, Collingwood. pp
- 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. *Journal of Dairy Science* 81:3248-3258.
- KOMARECK, A.R.; ROBERTSON, J.B.; VAN SOEST, P.J. 1994 Comparison of the filter bag technique to conventional filtration in the Van Soest NDF analysis of 21 feeds. *Proceeding of National Conference on Forage Quality, Evaluation and Utilization*. Fahey, G.C. Jr. (Ed), Nebraska University, Lincoln, NE. pp 02.
- KOMARECK, A.R.; ROBERTSON, J.B.; VAN SOEST, P.J. 1993. A comparison of methods for determining ADF using the filter bag technique versus conventional filtration. *Journal of Dairy Science*. 77 Supl. I: 1.
- KRONFELD, D. S., 1976. The potential importance of proportions of glucogenic, lipogenic and aminogenic nutrients in regard to the health and productivity of dairy cows. *Advances in Animal Physiology and Animal Nutrition* 7:5.
- LEAVER, J. D.; CAMPLING, R.C.; HOLMES, W. 1968. Use of supplementary feeds for grazing dairy cows. *Dairy Science Abstracts* 30: 355-361.

- LEAVER, J. D. 1986. Effects of supplements on herbage intake and performance. In: Frame, J. (Ed) 'Grazing'. British Grassland Society, Occasional Symposium No. 19: 79–88.
- LEMOSQUET, S.; RIDEAU, N.; RULQUIN, H.; FAVERDIN, P.; SIMON, J.; VERITE, R. 1997. Effects of a Duodenal Glucose Infusion on the Relationship Between Plasma Concentrations of Glucose and Insulin in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 80: 2854–2865.
- LUPARIA, F. 2009. Efecto de la suplementación con grano de maíz alto aceite sobre la concentración de sólidos útiles y de ácido linoleico conjugado (CLA) en leche de vacas en inicio de lactancia y en alimentación pastoril. Tesis de maestría, Posgrado en Producción Animal, Universidad Nacional de Mar del Plata. Facultad de Ciencias Agrarias, Balcarce, Argentina. pp 87.
- 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 and Forage Science* 39: 59-66.
- MERTENS, D.R. 1987. Predicting Intake and Digestibility Using Mathematical Models of Ruminant Function. *Journal of Animal Science* 64: 1548-1558.
- MOE, P.W.; FLATT, W.P.; TYRRELL, H.F. 1972. Net energy value of feeds for lactation. *Journal of Dairy Science* 55:945–958.
- MORRIS, L.D. 1948. Quantitative determination of carbohydrates with Dreywood's anthrone reagent. *Science* 107: 254-255.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th revised ed. Washington, DC: National Academy of Science. pp.
- OWENS, F.N.; ZINN, R.A.; KIM, Y.K. 1986. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *Journal of Animal Science* 63:1634-1648.
- PEYRAUD, J.L.; DELABY, L. 2005. Combiner la gestion optimale du pâturage et les performances des vaches laitières : enjeux et outils. *INRA Prod. Anim.*, 2005, 18 (4): 231-240.
- PEYRAUD J.L.; DELABY L. 2001. Ideal concentrate feeds for grazing dairy cows - Response to concentrates in interaction with grazing management and grass quality. In: P.G. Garnsworthy, J. Wiseman (Eds), *Recent Advances in Animal Nutrition*. University of Nottingham University Press, UK. pp 203-220.
- REMOND, B. 1988. Evolution du poids du contenu du réticulo-rumen chez les vaches laitières au cours des deux premiers mois de la lactation. *Reproduction and Nutrition Developments* 28 (1): 109-110.
- REYNOLDS, C.K.; HARMON, D.L.; CECABA, M.J. 1994. Absorption and Delivery of Nutrients for Milk Protein Synthesis by Portal-Drained Viscera. *Journal of Dairy Science* 77: 2787-2808.

- RIGOUT, S.; HURTAUD, C.; LEMOSQUET, S.; BACH, A.; RULQUIN, H. 2003. Lactational effect of propionic acid and duodenal glucose in cows. *Journal of Dairy Science* 86: 243-253.
- RIGOUT, S.; LEMOSQUET, S.; BACH, A.; BLUM, J.W.; RULQUIN, H. 2002. Duodenal glucose decreases milk fat production in grass silage fed dairy cows. *Journal of Dairy Science* 85: 2541–2550.
- S.A.S, 1999. Procedure guide, version 8. SAS Institute Inc, Cary, NC, USA.
- SORIANO, F.D.; POLAN, C.E.; MILLER, C.N. 2001. Supplementing Pasture to Lactation Holstein Fed a Total Mixed Ration Diet. *Journal of Dairy Science*, 84: 2460-2468.
- STOCKDALE, C.R. 2000. Levels of pasture substitution when concentrates are fed to grazing dairy cows in northern Victoria. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 40: 913–921.
- 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. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 44: 1-9.
- 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. *Australian Journal of Agricultural Research* 38: 927–40.
- SUTTON, J.D. 1985. Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. *Journal of Dairy Science*. 68: 3376.
- SUTTON, J.D. 1989. Altering Milk Composition by Feeding. *Journal of Dairy Science* 72: 2801-2814.
- TAVERNA, M.A. 2005. La calidad como factor de competitividad de la cadena láctea. En: *Manual de referencias técnicas para el logro de leche de calidad*. 2ª Edición. INTA EEA Rafaela, pp 7-16.
- THEODOROU, M.K.; WILIAMS, B.A.; DHANOA, M.S.; McALLAN, A.B.; FRANCE, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Journal of Animal Feed Science and Technology* 48: 185-197.
- 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. *Reproduction and Nutrition Developments* 45: 665–688.
- VAN VUUREN, A.M.; VAN DER KOELEN, C.J.; VROONS-DE BRUIN, J. 1993. Ryegrass versus corn starch or beet pulp fiber diet effects on digestion and intestinal amino acids in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 76: 2692–2700.

- VIDART, R.E.; FELLNER, V.; BURNS, J.C.; HUNTINGTON, G.B.; GREEN, J.T. 2008. Performance of lactating dairy cows fed varying levels of total mixed ration and pasture. *Journal of Dairy Research*, 75 (4): 471-480.
- 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. *Australian Journal of Agricultural Research* 55: 1009–1028.
- YAN, T.; GORDON, F.J.; FERRIS, C.P.; AGNEW, R.E.; PORTER, M.G.; PATTERSON, D.C. 1997. The metabolizable energy requirement for maintenance and the efficiency of utilization of metabolizable energy for lactation by dairy cows offered grass silage-based diets. *Livestock Production Science* 51: 141-150.