

**VARIACIÓN DIURNA Y ESTACIONAL DE LOS COMPONENTES DE LA MATERIA
SECA DE RAIGRÁS ANUAL (*Lolium multiflorum* L.) FERTILIZADO CON DOS
NIVELES DE NITRÓGENO.**

Irene Ceconi

Tesis presentada como requisito para optar al grado de

MAGISTER SCIENTIAE

Programa de Posgrado en Ciencias Agrarias

Curso de Posgrado en Producción Animal – Ciclo Académico 2003-2005

Facultad de Ciencias Agrarias – Universidad Nacional de Mar del Plata

Estación Experimental Agropecuaria de Balcarce – INTA

Balcarce, octubre de 2005

**VARIACIÓN DIURNA Y ESTACIONAL DE LOS COMPONENTES DE LA MATERIA
SECA DE RAIGRÁS ANUAL (*Lolium multiflorum* L.) FERTILIZADO CON DOS
NIVELES DE NITRÓGENO.**

Irene Ceconi

Aprobada por

Ing. Agr. Elizalde, Juan Carlos, Ph. D.

Director

Ing. Agr. Agnusdei, Mónica G., Dr.

Asesor

Ing. Agr. Rearte, Daniel H., Ph. D.

Asesor

Ing. Agr. Chilibroste, Pablo, Ph. D.

Evaluador Externo

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a la persona con quien realicé mis primeros trabajos de investigación. Gracias a su capacidad como profesional y como formador de recursos humanos, a su gran generosidad en cuanto a su disposición para compartir información, experiencia y conocimientos y a su calidez como ser humano, guardo de mis pasos exploratorios por la investigación un feliz recuerdo. Por ello, esta tesis va dedicada a mi amigo el Ing. Agr. Jorge Carrete.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia.

A Gonzalo, por su amor, compañía, paciencia (mucho) y comprensión.

A Mónica Agnusdei por su dedicación y contención, por los recursos y el tiempo invertidos y por la confianza que depositó en mí.

A Oscar Erquiaga por su valiosa ayuda durante la ejecución del ensayo.

A Tomy López del Laboratorio de Toxicología por facilitarme el uso del liofilizador.

A Ricardo Alberio y a Natividad del Laboratorio de Reproducción por prestarme las instalaciones y los equipos para conservar el nitrógeno líquido.

A mis amigas Soledad, Julieta, Gabriela, Marina y Cecilia por haberme acompañado y alentado durante mis tres años en Balcarce. A mis amigos del FONTAR, Carlos, Laura, Jany y Alberto por lo mismo.

A todos mis compañeros del posgrado y especialmente a mis amigos del Chinchorro sin los cuales, la respuesta a la célebre pregunta del filósofo correntino Carlos Robson “¿Alguien vio algo más aburrido que hacer un posgrado?”, hubiese sido definitivamente un “No”. Vaya entonces un *Gracias* a Delfina, Gustavo, Valeria, Tato, Yami, Karina, Marita, El Lobo y Caperucita, Jorge, Brian, Carlos, Víctor, Nicolás *Salta*, Berto y Manolo.

Por último, quiero agradecerle profundamente a Juan Elizalde por la oportunidad que me brindó de trabajar con él. Gracias por haber confiado en mí y por el tiempo compartido.

ÍNDICE

1. Introducción	1
2. Revisión bibliográfica	5
2.1. Relación entre biomasa acumulada y tasa de crecimiento y el contenido de nitrógeno, carbohidratos no estructurales solubles y materia seca del forraje	5
2.1.1. Nitrógeno	5
2.1.2. Carbohidratos no estructurales solubles	7
2.1.3. Materia seca	9
2.2. Variación estacional en la composición química del forraje. Cambios entre y dentro de ciclos de crecimiento	9
2.2.1. Variación entre ciclos de crecimiento	10
2.2.1.1. Diferencias en ganancia de peso entre estaciones	12
2.2.2. Variación dentro del ciclo de crecimiento	13
2.3. Variación diurna en el contenido de nitrógeno, carbohidratos no estructurales solubles y materia seca del forraje fresco	14
2.3.1. Efecto del horario de pastoreo sobre el desempeño del animal	17
2.4. Efectos del agregado de nitrógeno sobre el contenido de proteína, carbohidratos no estructurales solubles y materia seca del forraje fresco	18
2.4.1. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre el consumo	24
2.5. Efecto de condiciones climáticas imperantes en cortos períodos de tiempo sobre la concentración de carbohidratos no estructurales, proteína bruta y materia seca	25
2.6. Relación Carbohidratos No Estructurales/Proteína Bruta y Carbohidratos No Estructurales/Materia seca	26
2.7. Carbohidratos y proteínas en el crecimiento microbiano y la nutrición del rumiante	27
2.8. Relación entre el consumo de materia seca y el porcentaje de materia seca del forraje	29
3. Materiales y métodos	31
3.1. Lugar, período, material experimental y mediciones	31
3.2. Diseño experimental y tratamientos	32

3.2.1. Análisis I: Evaluación del efecto fecha de corte, nivel de fertilización nitrogenada y hora del día dentro de cada ciclo de crecimiento	33
3.2.2. Análisis II: Evaluación del efecto ciclo de crecimiento, fecha de corte y nivel de nitrógeno	35
3.2.3. Análisis III: Evaluación del efecto del nivel de heliofanía (nublado o soleado), nivel de nitrógeno y cantidad de días soleados o nublados (1, 2 y 3 días) durante el ciclo de acumulación inicial de forraje y durante el segundo rebrote	37
3.2.4. Análisis IV: Evaluación del efecto del nivel de nitrógeno, cantidad de días (1, 2 y 3 días) y ciclo de crecimiento en cada nivel de heliofanía (nublado o soleado)	40
3.3. Análisis químicos	43
4. Resultados	44
4.1. Análisis I	44
4.1.1. Ciclo inicial de crecimiento – Otoño	44
4.1.2. Primer rebrote – Principios de invierno	51
4.1.3. Segundo rebrote – Invierno	58
4.2. Análisis II	69
4.3. Análisis III	80
4.3.1. Ciclo inicial de crecimiento	80
4.3.2. Segundo rebrote	85
4.4. Análisis IV	89
4.4.1. Sucesión de días nublados	89
4.4.2. Sucesión de días soleados	92
5. Discusión	97
5.1. Tiempo de rebrote, biomasa acumulada y tasa de crecimiento	97
5.2. Efecto de la fecha de corte sobre la composición química del forraje	98
5.2.1. Proteína bruta	98
5.2.2. Carbohidratos no estructurales solubles	101
5.2.3. Materia seca	105
5.3. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre la composición química del forraje	107

5.3.1. Proteína bruta	107
5.3.2. Carbohidratos no estructurales solubles	107
5.3.3. Materia seca	108
5.4. Efecto de la hora del día sobre la composición química del forraje	110
5.4.1. Proteína bruta	110
5.4.2. Carbohidratos no estructurales solubles	111
5.4.3. Materia seca	113
5.5. Efecto del ciclo de crecimiento sobre la composición química del forraje	115
5.5.1. Proteína bruta	115
5.5.2. Carbohidratos no estructurales solubles	116
5.5.3. Materia seca	118
5.6. Efecto de la ocurrencia de tres días soleados o nublados sobre la composición química del forraje. Variaciones en el corto plazo	120
5.6.1. Proteína Bruta	120
5.6.2. Carbohidratos no estructurales solubles	120
5.6.3. Materia seca	121
5.7. Comentarios adicionales sobre la composición química del forraje durante el ensayo y su vinculación con la relación Carbohidratos no estructurales solubles/Proteína bruta	122
6. Conclusiones	126
7. Implicancias prácticas	129
8. Bibliografía	131

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Condiciones climáticas durante los días de muestreo y durante el período de crecimiento en cada ciclo	32
Cuadro 2. Condiciones climáticas durante las sucesiones de días nublados y soleados	38
Cuadro 3. Efecto de la fecha de corte, nivel de nitrógeno y hora del día sobre el porcentaje de materia seca, carbohidratos no estructurales solubles y proteína bruta de raigrás anual durante el ciclo inicial	45
Cuadro 4. Contenido de materia seca en el forraje de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno y horas del día durante el ciclo inicial	46
Cuadro 5. Contenido de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno y horas del día durante el ciclo inicial	47
Cuadro 6. Contenido de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno y horas del día durante el ciclo inicial	49
Cuadro 7. Efecto de la fecha de corte, nivel de nitrógeno y hora del día sobre el porcentaje de materia seca, carbohidratos no estructurales solubles y proteína bruta en raigrás anual durante el primer rebrote	52
Cuadro 8. Contenido de materia seca en el forraje de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno y horas del día durante el primer rebrote	53
Cuadro 9. Contenido de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno y horas del día durante el primer rebrote	54
Cuadro 10. Contenido de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno y horas del día durante el primer rebrote	56

Cuadro 11. Efecto de la fecha de corte, nivel de nitrógeno y hora del día sobre el porcentaje de materia seca, carbohidratos no estructurales solubles y proteína bruta en raigrás anual durante el segundo rebrote	59
Cuadro 12. Contenido de materia seca en el forraje de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno y horas del día durante el segundo rebrote	60
Cuadro 13. Contenido de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno y horas del día durante el segundo rebrote	62
Cuadro 14. Contenido de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno y horas del día durante el segundo rebrote	64
Cuadro 15. Efecto de la hora del día sobre el porcentaje de materia seca, carbohidratos no estructurales solubles y proteína bruta en raigrás anual durante el ciclo inicial de crecimiento, primer y segundo rebrotes	66
Cuadro 16. Efecto de la fecha de corte, nivel de nitrógeno y ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de materia seca, carbohidratos no estructurales solubles y proteína bruta de raigrás anual	69
Cuadro 17. Contenido de materia seca en el forraje de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno y ciclos de crecimiento	70
Cuadro 18. Contenido de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno y ciclos de crecimiento	73
Cuadro 19. Contenido de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno y ciclos de crecimiento	76
Cuadro 20. Efecto del nivel de heliofanía, nivel de nitrógeno y cantidad de días soleados o nublados durante el ciclo inicial sobre el porcentaje de materia seca, carbohidratos no estructurales solubles y proteína bruta de raigrás anual	80

Cuadro 21. Contenido de materia seca en el forraje de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno, durante uno, dos y tres días consecutivos nublados o soleados en el ciclo inicial	81
Cuadro 22. Contenido de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno, durante uno, dos y tres días consecutivos nublados o soleados en el ciclo inicial	82
Cuadro 23. Contenido de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno, durante uno, dos y tres días consecutivos nublados o soleados en el ciclo inicial	84
Cuadro 24. Efecto del nivel de heliofanía, nivel de nitrógeno y cantidad de días soleados o nublados durante el segundo rebrote sobre el porcentaje de materia seca, carbohidratos no estructurales solubles y proteína bruta de raigrás anual	85
Cuadro 25. Contenido de materia seca en el forraje de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno, durante uno, dos y tres días consecutivos nublados o soleados en el segundo rebrote	86
Cuadro 26. Contenido de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno, durante uno, dos y tres días consecutivos nublados o soleados en el segundo rebrote	87
Cuadro 27. Contenido de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno, durante uno, dos y tres días consecutivos nublados o soleados en el segundo rebrote	88
Cuadro 28. Efecto del nivel de nitrógeno, cantidad de días nublados y ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de materia seca, carbohidratos no estructurales solubles y proteína bruta de raigrás anual	89
Cuadro 29. Contenido de materia seca en el forraje de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno, durante uno, dos y tres días nublados consecutivos y en diferentes ciclos de crecimiento	90

Cuadro 30. Contenido de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno, durante uno, dos y tres días nublados consecutivos y en diferentes ciclos de crecimiento	91
Cuadro 31. Contenido de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno, durante uno, dos y tres días nublados consecutivos y en diferentes ciclos de crecimiento	92
Cuadro 32. Efecto del nivel de nitrógeno, cantidad de días soleados y ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de materia seca, carbohidratos no estructurales solubles y proteína bruta de raigrás anual	92
Cuadro 33. Contenido de materia seca en el forraje de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno, durante uno, dos y tres días soleados consecutivos y en diferentes ciclos de crecimiento	93
Cuadro 34. Contenido de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno, durante uno, dos y tres días soleados consecutivos y en diferentes ciclos de crecimiento	94
Cuadro 35. Contenido de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno, durante uno, dos y tres días soleados consecutivos y en diferentes ciclos de crecimiento	95
Cuadro 36. Tiempo de rebrote, biomasa acumulada y tasa de crecimiento diaria con dos niveles de fertilización durante tres ciclos de crecimiento	97
Cuadro 37. Porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles, tasa de crecimiento, radiación y porcentaje de vainas en cada fecha de corte y nivel de nitrógeno aplicado durante el ciclo inicial de crecimiento de raigrás anual	102
Cuadro 38. Porcentaje de datos por categoría según el contenido de materia seca, carbohidratos no estructurales solubles y proteína bruta en cada ciclo de crecimiento y durante el período total del ensayo	123

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tasa de crecimiento de verdeo de raigrás anual y pasturas consociadas con diferentes niveles de fertilización nitrogenada y fosforada	11
Figura 2. Temperatura máxima, mínima y radiación en la EEA INTA Balcarce, Prov. de Buenos Aires. Promedios mensuales de los años 1971 – 2004	12
Figura 3. Efecto del momento del día sobre la distribución vertical del contenido de carbohidratos solubles en una pastura de raigrás perenne	15
Figura 4. Relación entre la biomasa aérea acumulada y la radiación fotosintéticamente activa acumulada en una pastura de <i>Phleum pratense</i> con cuatro niveles de nitrógeno	19
Figura 5. Efecto de la relación carbohidratos no estructurales/proteína degradable en la dieta sobre la producción de proteína microbiana.	28
Figura 6. Diagrama de campo del diseño utilizado en el ensayo – Parcelas Divididas con Bloques Completos al azar	33
Figura 7. Interacción entre la fecha de corte y la hora del día sobre el porcentaje de materia seca durante el ciclo inicial de crecimiento a dos niveles de fertilización	44
Figura 8. Interacción entre el nivel de nitrógeno y la hora del día sobre el porcentaje de materia seca durante el ciclo inicial de crecimiento	47
Figura 9. Interacción entre la fecha de corte y la hora del día sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles durante el ciclo inicial de crecimiento a dos niveles de fertilización	48
Figura 10. Interacción entre la fecha de corte y la hora del día sobre el porcentaje de proteína bruta durante el ciclo inicial de crecimiento a dos niveles de fertilización	50
Figura 11. Coeficiente de correlación (r) entre el %CNES y el %MS y entre el %CNES y el %PB en el forraje de raigrás anual durante el ciclo inicial de crecimiento	50
Figura 12. Interacción entre la fecha y el nivel de nitrógeno sobre el porcentaje de materia seca en el forraje de raigrás anual durante el primer rebrote	51

Figura 13. Interacción entre la fecha de corte y la hora del día sobre el porcentaje de materia seca durante el primer rebrote a dos niveles de fertilización	54
Figura 14. Interacción entre la fecha y el nivel de nitrógeno sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual durante el primer rebrote	55
Figura 15. Interacción entre la fecha y el nivel de nitrógeno sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual durante el primer rebrote	57
Figura 16. Efecto de la hora del día sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual durante el primer rebrote a dos niveles de fertilización nitrogenada	57
Figura 17. Coeficiente de correlación (r) entre el %CNES y el %MS y entre el %CNES y el %PB en el forraje de raigrás anual durante el primer rebrote	58
Figura 18. Interacción entre la fecha y el nivel de nitrógeno sobre el porcentaje de materia seca en el forraje de raigrás anual durante el segundo rebrote	61
Figura 19. Interacción entre la fecha de corte y la hora del día sobre el porcentaje de materia seca durante el segundo rebrote a dos niveles de fertilización	61
Figura 20. Interacción entre la fecha y el nivel de nitrógeno sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual durante el segundo rebrote	63
Figura 21. Interacción entre la fecha de corte y la hora del día sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles durante el segundo rebrote a dos niveles de fertilización	63
Figura 22. Interacción entre la fecha y el nivel de nitrógeno sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual durante el segundo rebrote	65
Figura 23. Coeficiente de correlación (r) entre el %CNES y el %MS y entre el %CNES y el %PB en el forraje de raigrás anual durante el segundo rebrote	65
Figura 24. Variación en el porcentaje de materia seca durante el día en el ciclo inicial, primer y segundo rebrotes	67

Figura 25. Variación en el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles durante el día en el ciclo inicial, primer y segundo rebrotes	67
Figura 26. Variación en el porcentaje de proteína bruta durante el día en el ciclo inicial, primer y segundo rebrotes	68
Figura 27. Interacción entre la fecha de corte y el nivel de nitrógeno sobre el porcentaje de materia seca en el forraje de raigrás anual	70
Figura 28. Interacción entre la fecha de corte (1 a 4) y el ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de materia seca en el forraje de raigrás anual	71
Figura 29. Interacción entre la fecha de corte, nivel de nitrógeno y ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de materia seca en el forraje de raigrás anual	72
Figura 30. Interacción entre la fecha de corte y el ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual	74
Figura 31. Interacción entre el nivel de fertilización nitrogenada y el ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual	75
Figura 32. Interacción entre la fecha de corte y el nivel de nitrógeno sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual	76
Figura 33. Interacción entre la fecha de corte y el ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual	77
Figura 34. Interacción entre la fecha de corte, nivel de nitrógeno y ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual	78
Figura 35. Interacción entre el nivel de fertilización nitrogenada y el ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual	79
Figura 36. Interacción entre el nivel de heliofanía y la cantidad de días nublados o soleados sobre el porcentaje de materia seca en el forraje de raigrás anual durante el ciclo inicial de crecimiento	81

Figura 37. Interacción entre el nivel de heliofanía y la cantidad de días nublados o soleados sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual durante el ciclo inicial de crecimiento	83
Figura 38. Interacción entre el nivel de heliofanía y la cantidad de días nublados o soleados sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual durante el ciclo inicial de crecimiento	85
Figura 39. Interacción entre el nivel de heliofanía y la cantidad de días nublados o soleados sobre el porcentaje de materia seca en el forraje de raigrás anual durante el segundo rebrote	86
Figura 40. Interacción entre el nivel de heliofanía y la cantidad de días nublados o soleados sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual durante el segundo rebrote	88
Figura 41. Interacción entre el ciclo de crecimiento y la cantidad de días nublados sobre el porcentaje de materia seca en el forraje de raigrás anual	90
Figura 42. Interacción entre el nivel de fertilización nitrogenada y el ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual	95
Figura 43. Interacción entre el ciclo de crecimiento y la cantidad de días soleados sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual	96
Figura 44. Porcentaje de hoja en el forraje de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno durante el ciclo inicial de crecimiento	99
Figura 45. Efecto de la biomasa acumulada durante el ciclo inicial sobre el porcentaje de nitrógeno en la materia seca de raigrás anual con distintos niveles de fertilización nitrogenada	100
Figura 46. Efecto de la radiación durante el día de muestreo (a) y de la radiación acumulada durante los tres días previos al muestreo (b) sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual durante el segundo rebrote fertilizado con dos niveles de nitrógeno	104

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue determinar las variaciones diurnas y estacionales en el contenido de carbohidratos no estructurales solubles (CNES), proteína bruta (PB) y materia seca (MS) del forraje de raigrás anual, con dos niveles de fertilización nitrogenada (0 y 120 kgN/ha). También se evaluó el efecto de una sucesión de días nublados y una de días soleados sobre dichos componentes. Para esto se tomaron muestras de forraje en tres ciclos de crecimiento (otoño, inicios de invierno e invierno), a través de diferentes fechas dentro de cada ciclo y en seis horarios dentro de cada fecha. El %CNES y el %MS aumentaron y el %PB disminuyó durante el día. La fertilización disminuyó el %CNES y el %MS. El %CNES se mantuvo invariable a través de las fechas durante el otoño e inicio de invierno y aumentó a través de las fechas durante el invierno. El %MS se mantuvo invariable durante el otoño y aumentó durante inicio de invierno e invierno. El %PB se mantuvo invariable durante el otoño y disminuyó durante inicio de invierno e invierno. El %MS aumentó y el %PB disminuyó con los ciclos. El %CNES promedio de otoño y de invierno fue mayor respecto del %CNES promedio de inicio de invierno. El %MS y %CNES fueron mayores en los días soleados respecto de los nublados, principalmente en el invierno. Los días nublados aumentaron el %PB del forraje respecto de los soleados sólo durante el otoño. Los resultados indican que el %MS fue inferior a 16-18% durante todo el otoño y parte del inicio de invierno, lo cual resultaría insuficiente desde el punto de vista del consumo del animal. Por ello, las prácticas que tiendan a aumentar el %MS, como por ejemplo el pastoreo de tarde, tendrían más impacto sobre el consumo en dicho período. La relación CNES/PB estuvo determinada, aún en días nublados y con una alta fertilización, por un %CNES superior a 10%. Ese 10% de CNES en el verdeo se correspondió con un 11% de MS, encontrándose este último por debajo del límite mínimo (16-18% de MS) sugerido por la bibliografía para evitar restricciones al consumo.

Palabras clave: raigrás anual, carbohidratos no estructurales solubles, proteína bruta, materia seca, fertilización, ciclo de crecimiento, hora del día.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the diurnal and seasonal variations in non-structural carbohydrates (NSC), crude protein (CP) and dry matter (DM) content of an italian ryegrass sward, at two levels of nitrogen fertilisation (0 and 120 kgN/ha). The effect of sunny and cloudy weather was also evaluated. Measurements were carried out during three growing cycles (autumn, early winter and winter), at different dates within each cycle and at six times in each date. NSC and DM content were lower and CP content was higher in the morning than in the afternoon. NSC and DM content were lower in fertilised swards. NSC content did not vary during autumn and early winter and increased during winter. DM content did not vary during autumn and increased during early winter and winter. CP content did not vary during autumn and decreased during early winter and winter. DM increased and CP decreased with the growing cycles. NSC was greater in autumn and winter than in early winter. DM and NSC were higher in sunny days than in cloudy days, and this difference was more pronounced in winter. Only in autumn the CP content was higher in cloudy than in sunny days. The results showed that DM content was under 16-18% during the autumn and the beginnings of early winter, and this would be the cause of the low animal performance during this period, due to a limited DM intake. Therefore, swards management practices which tend to increase forage DM content (e.g. grazing at evening) will be better apply in this season. Even in cloudy days and in fertilised swards, NSC/CP ratio was determined by a NSC content greater than 10%. This 10% of NSC corresponds to 11% of DM, which is under the reference value of 16-18% of DM to avoid physical limitations in DM intake on grazing animals.

Keywords: italian ryegrass, non-structural carbohydrates, crude protein, dry matter, fertilisation, growing cycle, time of day.

1. INTRODUCCIÓN

La alimentación en los sistemas de producción ganadera de la región se caracteriza por el aprovechamiento directo de pasturas perennes y verdes, siendo el raigrás anual (*Lolium multiflorum* L.) una de las especies más difundidas. El rol de este cultivo es la provisión de forraje otoño-inverno-primaveral dado que las tasas de crecimiento son dos a tres veces superiores que las de las pasturas perennes durante el otoño e invierno. La calidad del forraje ofrecido depende en parte de su composición química, la cual puede estar afectada por numerosos factores, tales como la especie y/o variedad, la estación del año y ciclo de crecimiento¹, la edad del rebrote, nivel de fertilización, hora del día y condiciones climáticas. A su vez, estos factores pueden interactuar, determinando un forraje más o menos balanceado en su composición química desde el punto de vista de la nutrición del animal.

La producción de carne sobre verdes invernales ha encontrado limitantes para su máxima expresión, debido a las bajas ganancias de peso registradas durante el primer aprovechamiento o ciclo inicial de crecimiento (Méndez y Davies, 2003). El forraje de otoño se caracteriza por presentar bajos contenidos de materia seca (MS), carbohidratos no estructurales solubles (CNES) y altos contenidos de proteína bruta (PB), de la cual una gran proporción se encuentra en forma de proteína soluble. Ante esta situación, parte del nitrógeno (N) consumido no podría ser captado por las bacterias del rumen, el cual se eliminaría en forma de urea a través de la orina, constituyendo una pérdida de N y una ineficiencia en el uso del N para el rumiante. A su vez, el bajo contenido de MS del forraje es otro factor relacionado con el bajo consumo de los animales, dado que ambos factores se relacionan de manera positiva (Vérité y Journet, 1970; Cabrera Estrada *et al.*, 2004). El efecto del tenor de MS del forraje sobre el consumo sería más importante cuando aquel es inferior al 18-20% y cuando el forraje es de alta calidad (superior al 70% de digestibilidad; Osoro y Cebrian, 1989). La baja relación CNES/PB y el bajo contenido de MS de los forrajes frescos han sido propuestos como responsables, al menos en parte, del fenómeno de las bajas ganancias de peso en el período otoño-invernal (Ribeiro,

¹ *Ciclo de crecimiento*: se refiere a cada uno de los períodos de aprovechamiento del recurso (inicial, primer y segundo rebrotos en el caso del presente ensayo de tesis).

MacRae y Webster, 1981; Elizalde y Santini, 1992; Elizalde, 2003), caracterizando al forraje fresco de otoño como un alimento desbalanceado desde el punto de vista de la nutrición animal. Esta situación podría atenuarse por la tarde y/o a medida que el ciclo de crecimiento avanza, debido a un aumento en la proporción de CNES y a una disminución en el porcentaje de PB y en el contenido de agua (Delagarde *et al.*, 2000). Sin embargo, el posible desbalance podría acentuarse con altos niveles de fertilización nitrogenada debido a un incremento en el contenido de PB del forraje y a una disminución en el contenido de CNES provocada por un incremento en la tasa de crecimiento del forraje (Peyraud y Astigarraga, 1998).

La pampa húmeda es una de las regiones más afectadas por el fenómeno de las bajas ganancias de peso otoño-invernales, debido principalmente a una mayor incidencia de los efectos climáticos (días nublados, lloviznas) sobre la relación CNES/PB, el contenido de MS y el comportamiento del animal (Elizalde y Santini, 1992). Sin embargo, la mayoría de la información proviene de trabajos realizados en sólo un ciclo de crecimiento o en más de un ciclo de crecimiento pero con datos provenientes de sólo un día de muestreo o en sólo un horario del día (Elizalde, Santini y Pasinato, 1994; Méndez y Davies, 2003). La mayor parte de la información del extranjero se refiere a especies forrajeras perennes durante el ciclo primavero-estival (Fulkerson *et al.*, 1998; Delagarde *et al.*, 2000).

Durante la ejecución del presente trabajo, se prevé determinar las variaciones diurnas y estacionales² que ocurren en el contenido de CNES, PB y MS del forraje de raigrás anual, en dos ambientes nitrogenados. También se evaluará la influencia de las condiciones climáticas imperantes en períodos cortos de tiempo sobre dichos componentes.

² *Variaciones estacionales*: se refiere a las variaciones que ocurren dentro de un mismo ciclo de crecimiento como consecuencia del transcurso de los días, como así también a las variaciones entre ciclos de crecimiento.

Hipótesis de trabajo

- El nivel de fertilización nitrogenada disminuye la concentración de CNES y de MS.
- La concentración de CNES y MS es mayor y la de PB menor a medida que transcurren los días dentro del mismo ciclo de crecimiento y a medida que transcurren los diferentes ciclos de crecimiento.
- La concentración de CNES y MS es menor y la de PB es mayor en la mañana respecto de la tarde.
- La variación estacional y diurna de los componentes de la MS pueden estar afectadas por el nivel de fertilización nitrogenada.
- La ocurrencia de tres o más días nublados o de sol consecutivos afecta la concentración de PB, CNES y MS y ese efecto puede ser dependiente del nivel de fertilización nitrogenada y del ciclo de crecimiento.

Objetivos generales

- Determinar e interpretar los valores medios de PB, CNES y MS obtenidos en seis momentos del día en un verdeo de raigrás anual cultivado con dos niveles contrastantes de fertilización nitrogenada, durante tres ciclos de crecimiento.
- Evaluar el contenido de PB, CNES y MS en un momento del día durante tres o más días nublados y de sol consecutivos, en un verdeo de raigrás anual cultivado con dos niveles contrastantes de fertilización nitrogenada y en diferentes ciclos de crecimiento.

Objetivos particulares

- Evaluar el efecto de la fertilización nitrogenada sobre el contenido de PB, CNES y MS.
- Estimar el efecto del avance de los días (efecto "*fecha de corte*") dentro de un mismo ciclo de crecimiento sobre el contenido de PB, CNES y MS.

- Determinar el efecto de los diferentes ciclos de crecimiento sobre la concentración de PB, CNES y MS.
- Determinar las variaciones que ocurren en el contenido de PB, CNES y MS a medida que transcurren las horas del día.
- Interpretar las posibles interacciones entre las horas del día, nivel de fertilización nitrogenada y fecha de corte dentro de un mismo ciclo de crecimiento sobre el contenido de PB, CNES y MS.
- Interpretar las posibles interacciones entre la fecha de corte, nivel de fertilización nitrogenada y ciclo de crecimiento sobre el contenido de PB, CNES y MS.
- Estimar el impacto de tres o más días nublados consecutivos sobre el contenido de PB, CNES y MS y determinar si dicho impacto es variable en función del nivel de fertilización nitrogenada y del ciclo de crecimiento.
- Estimar el efecto de tres o más días de sol consecutivos sobre el contenido de PB, CNES y MS y determinar si ese efecto depende del nivel de fertilización nitrogenada y del ciclo de crecimiento.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los carbohidratos en la planta se pueden clasificar como carbohidratos estructurales (pared celular) y no estructurales. Los componentes intracelulares de los forrajes frescos representan aproximadamente el 50% de la MS, el 80% de los compuestos nitrogenados y el 100% de los carbohidratos no estructurales (Sanderson y Wedin, 1989; Jarrige *et al.*, 1995, citado por Boudon y Peyraud, 2001). Los carbohidratos no estructurales pueden ser:

- *Solubles en alcohol*: azúcares reductores (glucosa y fructosa) y azúcar no reductor (sucrosa). Se consideran azúcares libres.
- *Solubles en agua*: fructanos. Se consideran azúcares de reserva.
- *Solubles en ácido sulfúrico*: principalmente almidón.

Los carbohidratos solubles en alcohol más los solubles en agua constituyen la fracción denominada “Carbohidratos no estructurales solubles – CNES” o simplemente “Carbohidratos solubles en agua” (Holt y Hilst, 1969; Lechtenberg, Holt y Youngberg, 1972) y es la fracción a la cual se hará referencia en este trabajo. Los CNES más los carbohidratos solubles en ácido componen la fracción denominada “Carbohidratos no estructurales totales” (Lechtenberg *et al.*, 1972). Los carbohidratos de reserva predominantes en pastos templados son sucrosa y fructanos mientras que en pastos tropicales, subtropicales y leguminosas son sucrosa y almidón (Brown y Blaser, 1965; White, 1973).

2.1. Relación entre biomasa acumulada y tasa de crecimiento y el contenido de nitrógeno, carbohidratos no estructurales solubles y materia seca del forraje.

2.1.1. Nitrógeno.

El contenido de proteína de los forrajes cambia marcadamente de acuerdo al crecimiento. Al avanzar los días de rebrote, la acumulación de biomasa se incrementa y

aun cuando el suministro de N en el suelo es elevado, la concentración del mismo en las plantas disminuye a medida que éstas crecen (Wilman, 1975b; Reeves, Fulkerson y Kellaway, 1996). Esto indica que a medida que el cultivo crece, el N se acumula a una tasa progresivamente menor que el carbono, siguiendo un patrón similar para un amplio rango de especies (Lemaire y Gastal, 1997).

A medida que la biomasa se incrementa y el área foliar se desarrolla, las plantas deben invertir una mayor proporción de carbono en la producción de tejidos de sostén de manera de poder soportar la mayor área foliar en una posición adecuada para la intercepción de la luz (Lemaire y Gastal, 1997). En general, la lámina de las hojas es más digestible, tiene un mayor contenido de PB y menos pared celular que los tallos y las vainas (Åman, 1985; Bonesmo y Bélanger, 2002). Estas diferencias estarían asociadas a que las hojas presentan una mayor proporción de mesófilo, cuyas células son abundantes en cloroplastos y enzima fotosintética (Rubisco) y presentan una pared primaria delgada (Esau, 1977; Gordon, *et al.*, 1985). Los tallos, cuya función primaria no es la fotosíntesis sino el sostén de las estructuras, se corresponden con un menor contenido de compuestos metabólicos (entre ellos Rubisco) y un menor contenido de N.

Mientras las plantas incrementan la cantidad y tamaño de las hojas, la acumulación de los componentes estructurales de la biomasa es más rápida que la acumulación de compuestos metabólicos (Lemaire y Gastal, 1997). Asimismo, al aumentar la acumulación de biomasa también se incrementa la competencia por luz entre las plantas, lo cual determinaría una menor actividad fotosintética de las hojas menos iluminadas y por lo tanto una disminución en el contenido de enzima fotosintética, que es una de las principales formas en la cual se encuentra el N en los forrajes. El incremento en la proporción de tejidos estructurales está dado por un aumento del mismo en las hojas a medida que éstas incrementan su tamaño, así como por un aumento en la proporción de tallos y vainas (Wilman, Ojuederie y Asare, 1976a; Wilman y Altimimi, 1984; Lemaire y Gastal, 1997).

En gramíneas, el contenido de PB se diluye durante el crecimiento tanto en las láminas como en las vainas y tallos (Mowat *et al.*, 1965; Sanderson y Wedin, 1989), mientras que en leguminosas el %PB en las hojas puede mantenerse constante (Lemaire y Gastal, 1997) o disminuir (Wilman y Altimimi, 1984). En síntesis, el principal factor

responsable de la disminución en el porcentaje de N en la planta a medida que se incrementa la biomasa es el aumento en la proporción de tejido estructural (Lemaire y Gastal, 1997). Dicho aumento se evidencia a través de un incremento en la proporción de tallo y de un aumento en la proporción de pared celular tanto en hojas como en tallos (Terry y Tilley, 1964; Bélanger y McQueen, 1999). La proporción de pared celular se relaciona de manera negativa con el contenido de N en la planta (Wilman y Altimimi, 1984).

2.1.2. Carbohidratos no estructurales solubles.

La acumulación de carbono atmosférico se realiza en forma de carbohidratos no estructurales en primera instancia. Estos carbohidratos son utilizados por las plantas como sustrato para el crecimiento o biosíntesis de proteínas, para sintetizar carbohidratos estructurales y para la respiración. Generalmente, existe una relación inversa entre la tasa de crecimiento y la acumulación de carbohidratos, por lo cual, éstos se incrementan durante los períodos de crecimiento lento y viceversa (Blaser, 1964; Colby *et al.*, 1965; Brown y Blaser, 1970). Dentro de la planta, las principales reservas de carbohidratos se encuentran en la base de los tallos (Waite y Boyd, 1953). Los carbohidratos no estructurales de reserva juegan un rol importante en la reiniciación del crecimiento durante los primeros días luego de un pastoreo o corte, momento en el cual la producción fotosintética es insuficiente para cubrir las demandas (May y Davidson, 1958; White, 1973). El nivel de carbohidratos solubles disminuye con el inicio del crecimiento de primavera o luego de un corte, alcanzando un mínimo con el inicio de la elongación de los tallos. El nivel de carbohidratos solubles se incrementa a partir de la elongación de los tallos en combinación con un incremento en el área foliar, alcanzando valores máximos en floración; en este estado fenológico la capacidad fotosintética es elevada y la demanda de carbohidratos para crecimiento es menor (Smith, 1975; Wulfes, Nyman y Kornher, 1999). A partir de la floración y llenado de semilla, el nivel de carbohidratos solubles disminuye a medida que el tejido foliar madura y se incrementa la síntesis de carbohidratos estructurales destinados a la estabilidad de los tallos.

La acumulación de carbohidratos de reserva en la planta depende del balance entre la fotosíntesis, el crecimiento y la respiración, reflejando el resultado de las relaciones

fuente-destino. De esta manera, los factores que afectan el ritmo de crecimiento y desarrollo de la planta y la actividad fotosintética, tales como la radiación, temperatura, agua, nutrientes y defoliación, afectarán el nivel de carbohidratos no estructurales. Los factores meteorológicos, climáticos y de manejo pueden influenciar el nivel de carbohidratos de manera directa a través del efecto que ejercen sobre la fotosíntesis y la respiración pero también indirectamente mediante modificaciones en el estado fenológico de las plantas (Wulfes *et al.*, 1999).

Frank (1994), encontró que la concentración de carbohidratos solubles en la materia seca de *Pascopyrum smithii* se incrementó significativamente a medida que aumentó el estrés hídrico. Esto se debería a que el proceso de crecimiento se reduce antes que el de la fotosíntesis (Brown y Blaser, 1970; Trlica y Cook, 1972; Busso, Richards y Chatterton, 1990). Las altas temperaturas durante el día y la noche disminuyen el porcentaje de carbohidratos solubles, aunque el aumento de la temperatura durante el día, si se encuentra por debajo del óptimo, incrementa tanto la respiración como la fotosíntesis. Las altas temperaturas nocturnas incrementan sólo la tasa respiratoria, disminuyendo el nivel de reservas (Baker y Jung, 1968; White, 1973). La temperatura óptima para el crecimiento y fotosíntesis en pastos templados se encuentra entre los 20 y 25 °C (White, 1973), sin embargo, la fotosíntesis ocurre a temperaturas menores que el crecimiento (Blaser, 1964). A su vez, la magnitud con que los cambios de temperatura afectan a ambos procesos es diferente; las reducciones de temperatura usualmente disminuyen más la respiración y el crecimiento que la fotosíntesis (Garza *et al.*, 1965; Wardlaw, 1968). Auda, Blaser y Brown (1966) encontraron que el contenido de carbohidratos solubles fue significativamente mayor en el forraje de pasto ovido sometido a temperaturas diurnas y nocturnas inferiores, lo cual fue atribuido a que las menores temperaturas estuvieron más cerca del óptimo para fotosíntesis que para crecimiento y macollaje y por lo tanto limitaron más al crecimiento que a la fotosíntesis.

El estado fenológico, a través de cambios en las proporciones de los componentes morfológicos (lámina, vaina y tallo), tiene un rol esencial en el control de la composición química del forraje. La mayoría de los autores coincide en que las vainas y tallos de las gramíneas generalmente contienen más carbohidratos solubles que las láminas, particularmente carbohidratos de reservas tales como los fructanos (Waite y Boyd, 1953; Terry y Tilley, 1964; Deinum y Dirven, 1975; Wilman y Altimimi, 1984). Por ello, a medida

que transcurren los días y aumenta la biomasa y la relación hoja/tallo disminuye, el nivel de CNES aumenta (Nowakowski, 1962; Valentine y Charles, 1979).

Por lo expuesto en los párrafos precedentes, los factores meteorológicos, climáticos y de manejo pueden modificar la composición química del forraje a través de la influencia que ejercen sobre la fotosíntesis, la respiración, el crecimiento y el estado fenológico de las plantas. A su vez, un mismo factor puede afectar a varios de dichos procesos, lo que puede resultar en fuertes interacciones sobre la composición química de la pastura.

2.1.3. Materia seca.

Dentro de la célula, el agua se encuentra contenida principalmente en la vacuola y en el citoplasma. Durante el crecimiento, la cantidad de protoplasma y pared celular sintetizada aumentan, aunque proporcionalmente aumenta más la cantidad de esta última (Garza *et al.*, 1965). Un incremento en la proporción de tejido estructural, disminuye la proporción de contenido celular y por lo tanto el contenido de agua. Así, la biomasa acumulada (Wilman, 1970; Wilman, 1975a), la relación tallo/hoja (Boudon y Peyraud, 2001) y la edad del rebrote (Delagarde *et al.*, 2000) presentan una relación positiva con el porcentaje de MS del forraje. El contenido de MS es mayor en primavera que en otoño (Elizalde *et al.*, 1994; Delagarde *et al.*, 2000) debido a que el crecimiento del otoño suele ser más folioso que el de primavera (Reed, 1978, Boudon y Peyraud, 2001).

2.2. Variación estacional en la composición química del forraje. Cambios entre y dentro de ciclos de crecimiento.

Los factores que determinan el contenido de N, CNES y MS en el forraje (biomasa acumulada, tasa de crecimiento, fotosíntesis, morfología de la planta, etc.) pueden variar dentro de un mismo ciclo de crecimiento y también de un ciclo a otro, como consecuencia de las condiciones climáticas, ambientales y de manejo que se presenten.

Durante el desarrollo y crecimiento de los verdeos de invierno, se suceden varios ciclos de crecimiento que suelen corresponderse con los ciclos de aprovechamiento de

los recursos por parte de los animales. Cada uno de estos ciclos ocurre en un momento del año diferente e incluso en estaciones climáticas diferentes, con características ambientales no sólo propias de la estación sino también de la región y del año. Por ello, cuando se evalúa el efecto del ciclo de crecimiento (inicial, primer rebrote, segundo rebrote, etc.) sobre la composición química del forraje fresco, generalmente se incluye un efecto asociado a condiciones climáticas y ambientales propias del momento durante el cual transcurre cada ciclo de crecimiento.

2.2.1. Variación entre ciclos de crecimiento.

El contenido de CNES, de MS y la biomasa acumulada son generalmente menores y el nivel de PB mayor en el forraje fresco de otoño respecto del de primavera (Reeves *et al.*, 1996; Delagarde *et al.*, 2000). Boudon y Peyraud (2001) observaron que el forraje fresco de raigrás perenne de primavera presentó mayores tasas de crecimiento, biomasa acumulada, proporción de vainas, nivel de carbohidratos solubles totales y contenido de MS respecto del forraje de otoño. Asimismo, durante la primavera el contenido de PB, clorofila y azúcares libres fue menor.

La variación estacional de los carbohidratos puede diferir entre un ambiente y otro (White, 1973). Fulkerson *et al.* (1998) observaron que el nivel de carbohidratos solubles en raigrás perenne fue máximo durante el invierno mientras que Radojevic *et al.* (1994) encontraron que en el invierno, el nivel de carbohidratos solubles fue mínimo. Ambas experiencias fueron realizadas en Australia, aunque la de Fulkerson *et al.* (1998) fue llevada a cabo en un ambiente subtropical, con veranos cálidos y húmedos e inviernos templados y secos. Fulkerson *et al.* (1998) concluyeron que las condiciones del invierno en dicha región son ideales para la rápida acumulación de carbohidratos solubles. Durante el otoño, la primavera y el verano, las temperaturas nocturnas y/o la nubosidad son mayores lo cual resultó en un menor contenido de carbohidratos solubles. Radojevic *et al.* (1994) realizaron la experiencia en una región templada de Australia donde las condiciones del invierno no son propicias para la acumulación de carbohidratos solubles; las mayores concentraciones de carbohidratos solubles se presentaron a fines de verano, cuando la radiación solar fue elevada. Sin embargo, en regiones templadas de Nueva Zelanda e Inglaterra los niveles de carbohidratos son máximos durante el invierno a pesar

de la extensa nubosidad (Thom, Sheat y Bryant, 1989, citados por Fulkerson *et al.*, 1998). Esto indicaría que las menores pérdidas de carbohidratos solubles por respiración durante la estación fría en dichas regiones, prevalecen sobre la disminución de la fotosíntesis debida a una alta nubosidad (Fulkerson *et al.*, 1998), pudiendo afectar la respuesta animal.

Gran parte de la información coincide en que el nivel de carbohidratos solubles en primavera es mayor que en el otoño (Elizalde *et al.*, 1994; Boudon y Peyraud, 2001), a pesar de que la tasa de crecimiento en primavera y por lo tanto la demanda de carbohidratos solubles también es superior (Figura 1). Esto podría deberse a que conjuntamente con una elevada tasa de crecimiento se incrementa el área foliar y con ello la radiación interceptada y la actividad fotosintética de la pastura (Wulfes *et al.*, 1999; Delagarde *et al.*, 2000). Delagarde *et al.* (2000) hallaron que durante la primavera, el nivel de carbohidratos solubles en raigrás anual se incrementó significativamente entre la semana tres y la cinco de rebrote y que dicho incremento no podría ser explicado solamente por disminuciones en la relación hoja/tallo. Estos autores concluyen que ese incremento se debería a una mayor actividad fotosintética asociada al aumento de biomasa y área foliar durante el período de máximo crecimiento. Parsons y Robson (1982) observaron que la fotosíntesis fue mayor durante la primavera respecto del otoño debido a una mayor capacidad fotosintética de las hojas y a una mejor estructura del canopeo.

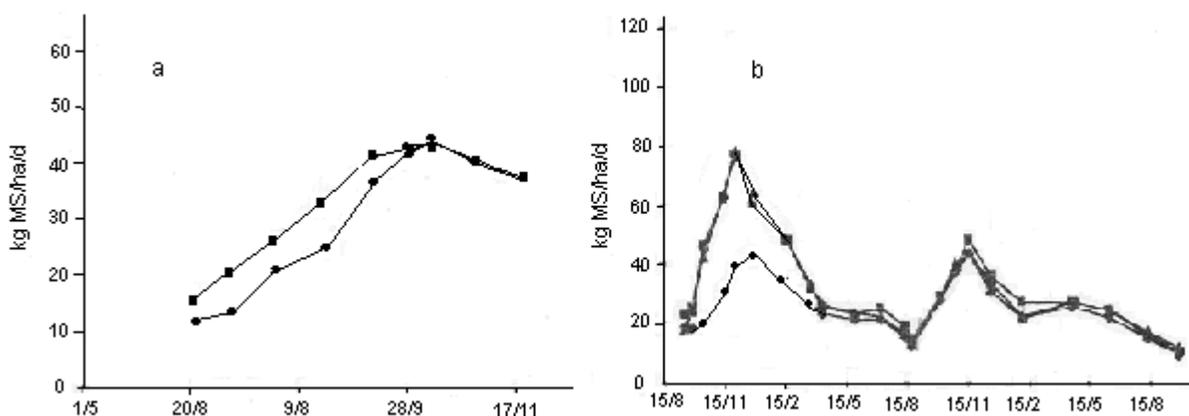


Figura 1. (a) Tasa de crecimiento (kgMS/ha/d) de verdeo de raigrás anual con diferentes niveles de fertilización (kg/ha) nitrogenada (● N0, ■ N100). (b) Tasa de crecimiento de pasturas consociadas con distintos niveles de fertilización con fósforo (● P0, ■ P20, ▲ P40). Extraído de Agnusdei, Colabelli y Fernández Grecco, 2001.

La mayor temperatura y radiación durante la primavera (Figura 2) podrían favorecer directamente a la tasa de fotosíntesis y a su vez, las temperaturas frescas durante la noche reducirían las pérdidas de carbohidratos solubles por respiración. Garza *et al.* (1965) encontraron que el nivel de carbohidratos solubles en alfalfa fue mayor cuando las plantas crecían bajo un régimen de temperatura de 30 °C durante el día y 15 °C durante la noche que cuando crecían a 30 °C constantes y a su vez, estas últimas presentaban un nivel de carbohidratos mayor que las plantas que crecían a 15 °C constantes. Si bien la relación hoja/tallo en estas tres situaciones fue diferente, lo cual explicaría en parte las diferencias en cuanto al nivel de carbohidratos, el incremento de temperatura durante el día y las bajas temperaturas nocturnas (30 °C y 15 °C, respectivamente) podrían favorecer la acumulación de carbohidratos a través de un aumento en la tasa de fotosíntesis durante el día y una reducción de las pérdidas por respiración durante la noche (White, 1973). A su vez, una mayor proporción de tallo en el forraje de primavera respecto del de otoño sería otro factor positivamente asociado a un mayor nivel de carbohidratos solubles.

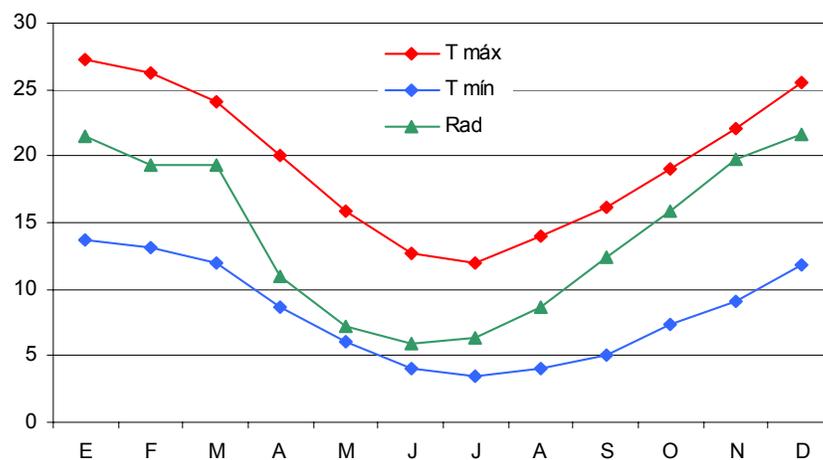


Figura 2. Temperatura (°C) máxima, mínima y radiación (Mj/m²/d) en la EEA INTA Balcarce, Prov. de Buenos Aires. Promedios mensuales de los años 1971 – 2004.

2.2.1.1. Diferencias en ganancia de peso entre estaciones.

Las bajas ganancias de peso de los bovinos durante el otoño e invierno han sido descriptas en numerosos países en los cuales las pasturas y verdes constituyen la

principal fuente de alimentación de los rumiantes (Beever *et al.*, 1978; Leaver, 1985; Radojevic *et al.*, 1994). Sin embargo, las diferencias en cuanto al desempeño de los animales entre la primavera y el otoño pueden variar en función de las condiciones climáticas que se presenten en ambas estaciones. Marsh (1975) observó que la ganancia diaria de peso en otoño (0.710 kg/animal/día) fue inferior a la de primavera (1.370 kg/animal/día) cuando en el otoño se presentaron condiciones de alta humedad y baja heliofanía³. Cuando el otoño fue más seco y menos nublado, la diferencia en cuanto a la ganancia de peso entre ambas estaciones fue prácticamente nula (0.980 y 1.090 kg/animal/día en otoño y primavera, respectivamente). Marsh (1975) concluye que las pasturas de otoño pueden soportar altas ganancias de peso cuando las condiciones climáticas son favorables.

2.2.2. Variación dentro del ciclo de crecimiento.

La composición química del forraje es variable no sólo entre estaciones o ciclos de crecimiento sino también dentro del mismo ciclo de crecimiento (White, 1973). La edad del rebrote es un factor que tiene influencia sobre la composición química del forraje. A medida que transcurren los días y la biomasa acumulada aumenta, la proporción de lámina disminuye, el nivel de MS y CNES aumenta y se reduce el contenido de N en la planta (Wilman, 1965; Reeves *et al.*, 1996; Elizalde, Merchen y Faulkner, 1999b).

Las variaciones en la composición química del forraje durante un ciclo de crecimiento, dependen de la estación del año en la cual transcurre dicho ciclo. Delagarde *et al.* (2000) observaron que las variaciones en el contenido de CNES y PB en raigrás perenne fueron de mayor magnitud durante el ciclo de primavera que durante el ciclo de otoño. Fulkerson *et al.* (1998) encontraron que durante el ciclo de primavera tardía no se observaron cambios significativos en el contenido de CNES ni de PB, mientras que durante el ciclo de invierno, el nivel de CNES en raigrás perenne se incrementó desde un 5% a 28% y el contenido de PB cayó desde 22% a 15%. La baja nubosidad, alta fotosíntesis y bajas

³ *Heliofanía*: mide la duración del brillo solar. La Heliofanía Efectiva se expresa en horas y minutos por día. La Heliofanía Relativa se expresa en porcentaje e indica cuánto representa la Heliofanía Efectiva sobre la teórica astronómica o potencial. Esta última varía en función de la región y época del año.

temperaturas nocturnas durante el invierno en un ambiente subtropical promueven la acumulación de CNES mientras que el aumento de temperatura y/o nubosidad en primavera disminuyen las variaciones de dicho componente durante el rebrote (Fulkerson *et al.*, 1998).

La información revisada sugiere que los procesos que intervienen en la determinación del contenido de CNES, PB y MS en los forrajes frescos son los mismos entre regiones, entre ciclos de crecimiento y entre momentos dentro del mismo ciclo. La composición química del forraje es dependiente de la región y de la estación del año, en función de las condiciones ambientales y climáticas que caractericen a cada una de ellas.

2.3. Variación diurna en el contenido de nitrógeno, carbohidratos no estructurales solubles y materia seca del forraje fresco.

Los procesos que ocurren entre la mañana y el atardecer involucran principalmente una pérdida de agua y una ganancia de carbohidratos solubles (Delagarde *et al.*, 2000). La pérdida de agua durante las horas de luz resulta de una pérdida de agua superficial por evaporación y de una pérdida de agua interna debido al balance negativo entre la absorción y la transpiración, lo cual determina un incremento en el contenido de MS del forraje (van Vuuren, van der Koelen y Vroons-de Bruin, 1986; Cruiziat 1997, citado por Delagarde *et al.*, 2000). En la bibliografía revisada, la variación en la concentración de MS en el forraje durante el día oscila entre 3.5 y 6 puntos porcentuales dependiendo, entre otros factores, de la estación del año. Delagarde *et al.* (2000) observaron que tanto la concentración promedio de MS como la diferencia entre la mañana y la tarde fueron mayores en la primavera respecto del otoño (23.6% y 4.4 puntos porcentuales y 16.0% y 1.9 punto porcentual en primavera y otoño, respectivamente).

La concentración de CNES en el forraje se incrementa durante las horas de luz y disminuye durante la noche como consecuencia del balance entre la cantidad que se produce por fotosíntesis y la que se consume por respiración (Ciavarella *et al.*, 2000a,b; Trevaskis, Fulkerson y Nandra, 2004). El aumento en el porcentaje de CNES durante el día se debe principalmente a un incremento en el porcentaje de sucrosa, producto inmediato de la fotosíntesis (Lechtenberg, Holt y Youngberg, 1971; Sicher *et al.*, 1984).

Lechtenberg *et al.* (1972) observaron que el 63% de la sucrosa acumulada durante el día en el forraje de festuca (*Festuca arundinacea*) era consumido por la planta entre las 12 de la noche y las 6 de la mañana.

Según la bibliografía revisada, la magnitud de los cambios en la concentración de carbohidratos no estructurales durante el día oscila entre 1 y 6 puntos porcentuales. Estos cambios representan aproximadamente entre un 15 y un 70% de incremento en la concentración de carbohidratos, dependiendo de la magnitud de dichos cambios y del porcentaje de carbohidratos al inicio del día. Por ejemplo, en la experiencia de Delagarde *et al.* (2000), el incremento durante el día fue de 2.4 puntos porcentuales lo cual representó un 13% de aumento, partiendo de un 18.5% de carbohidratos a la mañana. Ciavarella *et al.* (2000a) observaron un incremento de 5.7 puntos porcentuales sobre un valor mínimo de 10.3% de carbohidratos (55% de aumento).

El efecto del momento del día tiene un marcado efecto sobre la composición química de la planta, fundamentalmente en los estratos superiores de la pastura que representan el principal sitio de fotosíntesis e intercambio gaseoso con la atmósfera (Delagarde *et al.*, 2000). La diferencia en el contenido de CNES entre la mañana y la tarde es menor en los estratos inferiores de la pastura que en los superiores (Figura 3), lo cual se debería a una menor proporción de láminas y a la reducción en la fotosíntesis como consecuencia del creciente sombreado en los estratos más bajos de la pastura (Delagarde *et al.*, 2000).

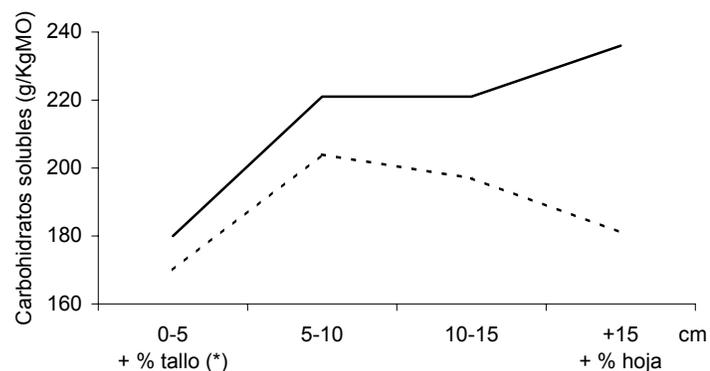


Figura 3. Efecto del momento del día (... mañana; — tarde) sobre la distribución vertical del contenido de carbohidratos solubles en una pastura de raigrás perenne. Adaptado de Delagarde *et al.*, 2000. (*) La referencia en cuanto al % de tallo y hoja es un agregado que no consta en la figura original de los autores.

Esto indicaría que cuando los animales consumen una mayor proporción de lámina, situación que podría presentarse con una baja carga animal, las fluctuaciones en el consumo de CNES entre la mañana y la tarde pueden ser mayores que cuando consumen una mayor proporción de vainas y tallos. A su vez, el nivel de CNES a la mañana es superior en el estrato 5-10cm y a la tarde en el estrato +15cm (más folioso). El resultado que se observa a la mañana es reflejo de lo que ocurre durante la noche; esto es, durante la noche, el nivel de CNES disminuye tanto en hojas como tallos, aunque en las hojas los CNES se consumen y/o exportan en una mayor proporción que en los tallos.

Los esqueletos carbonados de los compuestos nitrogenados provienen de los carbohidratos y las conversiones de N involucran a la enzima nitrato reductasa, cuya actividad se encuentra positivamente influenciada por la luz (Hageman, Flesher y Gitter, 1961; Beevers *et al.*, 1965). Por ello, podrían esperarse cambios en el contenido de N en respuesta a las variaciones diurnas en las condiciones ambientales (Youngberg, Holt y Lechtenberg, 1972). Sin embargo, los componentes nitrogenados de las plantas no son productos iniciales de la fotosíntesis ni sustratos inmediatos para la respiración. Por lo cual, el metabolismo del N sería menos influenciado de manera directa por los cambios ambientales diurnos que el metabolismo de los carbohidratos (Youngberg *et al.*, 1972). El porcentaje de proteína en el forraje puede disminuir durante el día (Youngberg *et al.*, 1972; Delagarde *et al.*, 2000, Trevaskis *et al.*, 2004) o no presentar variaciones significativas (Reeves *et al.*, 1996; Ciavarella *et al.*, 2000a). La disminución en la concentración de PB durante el día se debería a un efecto de dilución dentro de la materia seca como consecuencia del incremento en la concentración de CNES (Lechtenberg *et al.*, 1971; Youngberg *et al.*, 1972; Delagarde *et al.*, 2000). Los componentes que no aumentan durante el día o que lo hacen a una tasa menor que la MS es esperable que disminuyan cuando se los expresa como porcentaje de la MS (Lechtenberg *et al.*, 1972; Youngberg *et al.*, 1972). Youngberg *et al.* (1972) observaron que la concentración de N en la materia seca "residual" (materia seca total menos el contenido de carbohidratos solubles) se mantenía relativamente constante durante el día, lo cual indica que las variaciones diurnas en la concentración de N en la materia seca total son consecuencia de las fluctuaciones en el contenido de CNES.

La magnitud de las variaciones en el porcentaje de PB durante el día son de menor magnitud que las variaciones en la concentración de CNES (van Vuuren *et al.*, 1986;

Delagarde *et al.*, 2000). Delagarde *et al.* (2000) observaron diferencias significativas de 1.1 punto porcentual entre la mañana (17.7%) y la tarde (16.6%) lo que representa una disminución del 6.2%. La magnitud de la diferencia en el contenido de PB entre la mañana y la tarde puede variar en función de la estación del año. Delagarde *et al.* (2000) observaron un menor porcentaje de PB y una mayor variación durante el día en la primavera respecto del otoño (15.3% y 2.2 puntos porcentuales y 23.2% y 0.4 punto porcentual en primavera y otoño, respectivamente). De manera similar a lo observado en cuanto al porcentaje de CNES, la variación en el contenido de PB entre la mañana y la tarde es mayor en los estratos superiores o más foliosos de la pastura respecto de los inferiores (Delagarde *et al.*, 2000).

Como se mencionó anteriormente, en términos generales, las hojas presentan una mayor proporción de N y una menor concentración de CNES que los tallos. La relación hoja/tallo se incrementa durante el día y disminuye durante la noche (Lechtenberg *et al.*, 1971) lo cual pareciera contradecir el hecho de que durante el día, el porcentaje de N disminuye y el de carbohidratos aumenta. Esto estaría asociado a que el porcentaje de CNES en hojas es inferior al de los tallos a la mañana, pero a la tarde la concentración de CNES es superior en el estrato más folioso respecto del resto (Figura 3). Durante las horas de luz, los CNES se acumulan principalmente en las hojas y contribuyen al aumento diurno de peso seco foliar (Lechtenberg *et al.*, 1971; Sicher *et al.*, 1984).

2.3.1. Efecto del horario de pastoreo sobre el desempeño del animal.

Con pastoreo rotativo, el acceso de los animales a la parcela durante el atardecer, en reemplazo de la mañana, incrementaría la cantidad total de CNES ingeridos (Delagarde *et al.*, 2000; Trevaskis *et al.*, 2004). El aumento en el contenido de CNES y MS durante el día tendría efectos positivos (Fisher, Mayland y Burns, 1999; Ciavarella *et al.*, 2000b; Fisher *et al.*, 2002) o nulos (Rearte *et al.*, 2003) sobre la preferencia, el consumo y la producción animal. Trevaskis *et al.* (2004) observaron que las vacas que accedían a una nueva parcela luego del ordeño de la tarde presentaron un consumo similar al grupo de animales que accedían a la parcela por la mañana, aunque los litros de leche, los gramos de proteína producidos por animal y por día y la ganancia de peso diaria fueron superiores en el primer grupo (26.8 l/an/d, 850 g/an/d y 0.600 kg/an/d y 24.3 l/an/d, 794 g/an/d y

0.240 kg/an/d para el ingreso vespertino y matutino, respectivamente). El porcentaje de PB del forraje en los tratamientos de ingreso vespertino fue inferior (26.8%) respecto del matutino (32.4%), aunque el mismo se puede considerar suficiente para el tipo de animales empleados. Rearte *et al.* (2003, citado por Rearte, 2005) observaron que el consumo de materia seca y la producción de leche no fueron afectados por el nivel de CNES del forraje (cosechado por la mañana o por la tarde) debido probablemente a una insuficiente concentración de NH₃ en rumen generada por un bajo %PB en el forraje cosechado por la tarde (10-12%).

2.4. Efectos del agregado de nitrógeno sobre el contenido de proteína, carbohidratos no estructurales solubles y materia seca del forraje fresco.

La fertilización nitrogenada aumenta la tasa de crecimiento de pasturas y verdesos (Figura 1-a; Wilman, 1980; Agnusdei *et al.*, 2001; Akmal y Janssens, 2004).

La biomasa aérea acumulada en un período de tiempo determinado puede ser definida en función de la radiación fotosintéticamente activa interceptada (RFAi) acumulada y la eficiencia en el uso de dicha radiación (EUR) (Bélanger, Gastal y Lemaire, 1992a; Bélanger y Richards, 1997). La RFAi representa la radiación solar incidente que puede ser utilizada por las plantas como fuente de energía para la producción de biomasa. Está determinada, en parte, por el índice de área foliar el cual está estrechamente vinculado con la tasa de aparición foliar y la tasa de elongación foliar (Lemaire y Chapman, 1996). La EUR es la pendiente de la relación lineal que existe entre la RFA interceptada y la producción de biomasa aérea en un período determinado (Figura 4; Bélanger *et al.*, 1992a; Bélanger y Richards, 1997) e integra a los procesos fotosintético y respiratorio (Green, Erickson y Kruger, 2003). Esta relación brinda una estimación efectiva del potencial de los cultivos para acumular biomasa (Sinclair y Horie, 1989).

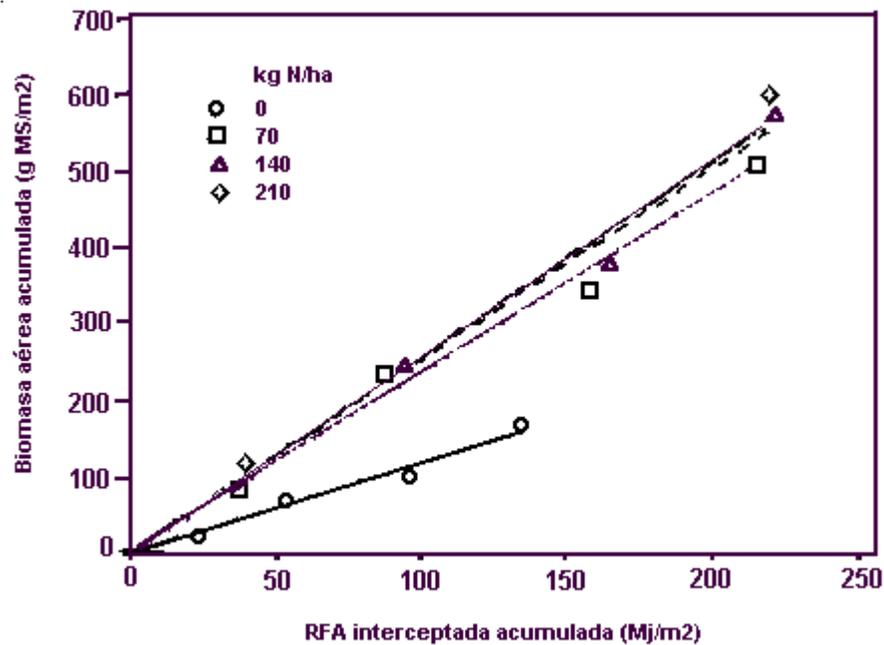


Figura 4. Relación entre la biomasa aérea acumulada y la radiación fotosintéticamente activa acumulada en una pastura de *Phleum pratense* con cuatro niveles de nitrógeno. La pendiente de esta relación indica la EUR. Adaptado de Bélanger y Richards, 1997.

La fertilización nitrogenada aumenta el crecimiento de los recursos forrajeros a través de los efectos positivos que ejerce tanto sobre la radiación interceptada como sobre la eficiencia en el uso de dicha radiación. Al aplicar N, la RFA interceptada aumenta (Bélanger *et al.*, 1992a; Bélanger y Richards, 1997) debido a incrementos en el área foliar (Robson y Parsons, 1978; Akmal y Janssens, 2004) como consecuencia principalmente de incrementos en la tasa de elongación foliar (Volenc y Nelson, 1984; Gastal, Bélanger y Lemaire, 1992).

La EUR es función de la asimilación de dióxido de carbono (tasa de fotosíntesis) y de la partición de carbono entre la parte aérea y las raíces (Sinclair y Horie, 1989; Bélanger *et al.*, 1992a). La EUR mejora cuando los niveles de N aumentan (Figura 4; Bélanger y Richards, 1997; Akmal y Janssens, 2004). Esto se explica mediante efectos directos del N sobre la tasa de fotosíntesis (Gastal y Bélanger, 1993; Bélanger y Richards, 1997) e indirectos a través de aumentos en la partición de carbono hacia órganos aéreos (Bélanger *et al.*, 1992b; Bélanger, Gastal y Warenbourg, 1994). El contenido de N de las hojas y la tasa de fotosíntesis presentan una alta correlación positiva debido,

probablemente, a que una importante fracción del N foliar se encuentra asociado a la maquinaria fotosintética (Sinclair y Horie, 1989). Cuando se incrementa la fertilización nitrogenada, la fotosíntesis aumenta tanto a nivel de hoja individual (Sinclair y Horie, 1989; Bélanger y Richards, 1997) como a nivel de cultivo o canopeo (Robson y Parsons, 1978; Gastal y Bélanger, 1993). La fotosíntesis a nivel de canopeo depende de la capacidad fotosintética de la hoja, del área foliar y de la estructura de la pastura (Gastal y Bélanger, 1993). En la fotosíntesis a nivel canopeo contribuyen las hojas no sombreadas que responden al agregado de N y cuya capacidad fotosintética es elevada y las sombreadas, expuestas a una menor intensidad de luz cuya respuesta al N y capacidad fotosintética son menores (Gastal y Bélanger, 1993; Lemaire y Chapman, 1996).

Ante deficiencias de N, el crecimiento de las raíces recibe una mayor prioridad por parte de la planta en respuesta al equilibrio funcional que existe entre las raíces y la biomasa aérea y sus respectivas actividades (Bélanger *et al.*, 1992b). Este equilibrio implica que la tasa de asimilación de carbono por parte de las hojas es proporcional a la tasa de absorción de N por parte de las raíces y que la planta ajusta el crecimiento de las biomásas aérea y subterránea (Bélanger *et al.*, 1992b). Por ello, las plantas sometidas a deficiencias de N particionan una mayor proporción de asimilados a las raíces que a la biomasa aérea, de manera de mejorar la actividad y crecimiento de las mismas (Akmal y Janssens, 2004).

La fertilización nitrogenada disminuye el porcentaje de CNES en la materia seca del forraje (Hyder y Sneva, 1959; Peyraud, Astigarraga y Faverdin, 1997; Peyraud y Astigarraga, 1998). Algunos autores han observado que la reducción se produce principalmente en el nivel de fructanos, que representan carbohidratos de reserva (Colby *et al.*, 1965; Waite, 1970) mientras que los azúcares libres (glucosa, fructosa y sucrosa), productos más inmediatos de la fotosíntesis, se mantienen constantes (Nowakowski, 1962; Lechtenberg *et al.*, 1972) o aumentan (Volenc y Nelson, 1984; Waite, 1970). La disminución en el contenido de carbohidratos no estructurales totales como consecuencia del agregado de N, sigue al patrón de disminución en el contenido de fructanos (Nowakowski, 1962; Lechtenberg *et al.*, 1972). White (1973) informó que ante situaciones de déficit de N, la aplicación de cantidades moderadas de fertilizante puede provocar un aumento en la cantidad de carbohidratos de reserva debido a un aumento significativo en la actividad fotosintética.

El nivel de CNES es una estimación de la cantidad de energía y precursores disponibles para el crecimiento (Volenc y Nelson, 1984) y debe ser interpretado en términos de tasa de fotosíntesis y requerimientos para el crecimiento (Auda *et al.*, 1966). Los carbohidratos se producen por fotosíntesis y su concentración disminuye como consecuencia de su utilización para el crecimiento. El agregado de N incrementa la fotosíntesis al mismo tiempo que aumenta el crecimiento. Sin embargo, el crecimiento es proporcionalmente más afectado que la fotosíntesis ante incrementos en la fertilización nitrogenada (Gastal y Bélanger, 1993; Bélanger y McQueen, 1999). Bélanger y Richards (1997) observaron que la fotosíntesis foliar cuando no se aplicó N nunca fue inferior al 60% de la observada con el máximo nivel de N, mientras que la tasa de crecimiento sin N representó el 33% de la máxima observada. A su vez, debido a que el efecto del N sobre la fotosíntesis a nivel canopeo es menor que a nivel de hoja individual, el efecto diferencial del N sobre el crecimiento y la fotosíntesis es aun mayor si se considera la fotosíntesis a nivel de cultivo (Bélanger y Richards, 1997).

Si el suministro de N es limitado, la síntesis de proteínas, la formación de tejido nuevo, la tasa de crecimiento y por lo tanto la utilización de carbohidratos en la biosíntesis de compuestos, se verán reducidos. Si en esta situación las hojas presentan una capacidad fotosintética adecuada, el exceso de fotosintatos será almacenado como carbohidratos de reserva (Brown y Blaser, 1965; Valentine y Charles, 1979; Peyraud y Astigarraga, 1998).

La fertilización nitrogenada aumenta el porcentaje de PB en la materia seca (Jones, Griffith y Walters, 1961; Delagarde, Peyraud y Delaby, 1997; Peyraud *et al.*, 1997). Wilman *et al.* (1976a) observaron que la fertilización nitrogenada aumentó el porcentaje de N tanto en hojas como tallos. Wilman *et al.* (1976b) informaron que la relación hoja/tallo disminuye a medida que aumenta la fertilización con N. Esto es válido cuando las comparaciones entre tratamientos se realizan a la misma edad, lo cual implica que los tratamientos que recibieron más N presentan una biomasa superior. En esta situación, es lógico observar que los tratamientos con más N, presenten una mayor proporción de tallo ya que, como se comentara en párrafos anteriores, al incrementarse la biomasa, la relación hoja/tallo disminuye. En el trabajo de Wilman *et al.* (1976b) si las comparaciones entre tratamientos se realizan a biomazas similares, lo cual implica comparar a diferentes edades, los tratamientos que recibieron una mayor fertilización presentan una mayor

proporción de hojas, es decir, una relación hoja/tallo superior respecto de los tratamientos menos fertilizados.

Anteriormente se mencionó que a medida que se incrementa la biomasa y/o disminuye la relación hoja/tallo, el contenido de N en la materia seca se reduce. La fertilización nitrogenada aumenta tanto la biomasa y la proporción de tallo como el contenido de N de la materia seca. Esto indicaría que al fertilizar, la absorción de N por parte de la planta supera al efecto dilución que ejerce el aumento de biomasa sobre el porcentaje de N.

El aumento en el porcentaje de PB en la materia seca como consecuencia del agregado de N es mayor que la disminución en el porcentaje de carbohidratos solubles (Wilman y Wright, 1978b). Según la bibliografía revisada, el incremento en la concentración de PB como resultado de la fertilización nitrogenada es de 9.5 unidades porcentuales que se corresponde con un 67% de aumento, mientras que la disminución en el porcentaje de carbohidratos no estructurales es de 5.3 unidades (39% de disminución). La fertilización nitrogenada aumenta la proporción de contenido celular (Wilman y Wright, 1978b) o, lo que es equivalente, disminuye su contraparte, es decir, la pared celular (Wilson, 1982; van Vuuren *et al.*, 1992; Bélanger y McQueen, 1999). Según el método desarrollado por Van Soest y Wine (1968), el contenido celular más la pared celular, denominada Fibra Detergente Neutro – FDN – representan el 100% de la MS. El porcentaje de N en el forraje presenta una relación inversa con la concentración de pared celular (Reid, Jung y Kinsey, 1967; Wilman y Altimimi, 1984) y una relación directa con la proporción de contenido celular (Wilman y Altimimi, 1984). La fertilización nitrogenada aumenta el porcentaje de N tanto en el contenido celular como en la pared celular (Wilman y Wright, 1978b; Wilman *et al.*, 1977), si bien la proporción de N total contenido en la pared celular disminuye (Wilman y Wright, 1978b; Peyraud y Astigarraga, 1998). Esto indica que al fertilizar, el N se concentra principalmente en el contenido celular, es decir, en forma de proteína soluble.

El contenido de MS en el forraje fresco se reduce a medida que se incrementa la fertilización nitrogenada (Wilman y Wright, 1978a; Delagarde *et al.*, 1997). Es válido considerar que el aumento en el contenido de agua como consecuencia del agregado de N supera al aumento en el contenido de proteínas y por ello el porcentaje de MS

disminuye. Algunos hechos ocurren conjuntamente con la disminución en el porcentaje de MS y podrían estar vinculados a dicha reducción. Uno de éstos es el aumento en la proporción de contenido celular que se produce cuando se fertiliza con N. Dentro de la célula, el agua se encuentra contenida principalmente en la vacuola y en el citoplasma. Al disminuir la proporción de pared como consecuencia del agregado de N, la proporción de contenido celular aumenta y por lo tanto el contenido de agua. El contenido de MS se mueve en dirección opuesta a la proporción de contenido celular (Wilman *et al.*, 1976b; Wilman *et al.*, 1977; Wilman y Wright, 1978b). El agregado de N promueve el crecimiento de tejido succulento, rico en PB y pobre en pared celular (Waite, 1970; Wilson, 1982).

Otra situación que podría estar asociada a la disminución en el contenido de MS a medida que aumenta el nivel de fertilización nitrogenada es la estrecha relación que existe entre las proteínas y el agua. El agua es un solvente indispensable para mantener la estructura y la funcionalidad de las proteínas (Mattos, 2002). Se ha observado que el agua interviene en la catálisis enzimática, en el plegamiento, arquitectura, estabilidad conformacional, dinámica y plasticidad de las proteínas y en la selectividad de reacciones específicas (Mattos, 2002). De esta manera, al fertilizar con N, aumenta el contenido de proteínas en el forraje y conjuntamente, para mantener la funcionalidad y estructura de las mismas, se incrementa la cantidad de agua.

Los efectos de la fertilización nitrogenada sobre la composición química del forraje se observan tanto en los tratamientos de fertilización comparados a igual edad como en los comparados a biomasa similares. Dichos efectos son de mayor magnitud cuando los tratamientos son comparados a la misma biomasa (Peyraud y Astigarraga, 1998). Cuando las comparaciones se realizan a la misma edad, los tratamientos más fertilizados presentan mayor biomasa acumulada. Esto contrarresta en parte el efecto positivo del agregado de N sobre el porcentaje de PB y el efecto negativo sobre la concentración de carbohidratos no estructurales, de MS y pared celular. En el trabajo de Wilman *et al.* (1977) la diferencia en cuanto a pared celular entre dos tratamientos de fertilización fue de 1.13 unidades porcentuales cuando la comparación se realizó a la misma edad, pero la diferencia fue de 11.8 unidades porcentuales cuando la comparación se realizó a biomasa semejantes, lo cual se correspondió con rebrotes de 3 y 10 semanas de edad para el tratamiento con y sin N, respectivamente. Es válido considerar esto ya que la decisión de ingresar a una pastura o verdeo generalmente se toma teniendo en cuenta la

biomasa disponible, independientemente de la fertilización que haya recibido. Es esperable que en esa situación las diferencias en cuanto a la composición química entre pasturas con y sin fertilización nitrogenada sean máximas.

2.4.1. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre el consumo.

El consumo de materia seca puede disminuir, aumentar o mantenerse invariable ante aumentos en el nivel de fertilización nitrogenada. Holmes y Lang (1963) observaron que el consumo de materia seca en animales estabulados disminuyó a medida que el forraje recibió mayor fertilización nitrogenada y el porcentaje de materia seca se redujo de 19.1% a 15.8%. van Vuuren *et al.* (1992) observaron resultados similares cuando el porcentaje de materia seca del forraje se redujo de 21.8% a 13.8% en primavera como consecuencia del agregado de nitrógeno. Peyraud *et al.* (1997) no encontraron efecto de la fertilización nitrogenada sobre el consumo de materia seca en animales estabulados, cuando el porcentaje de materia seca varió de 20.5% a 16%. Similares resultados fueron observados por Holmes y Lang (1963) cuando el porcentaje de materia seca aumentó de 18.3% a 21% como resultado de un menor nivel de fertilización. En pastos tropicales, donde el porcentaje de proteína bruta es generalmente bajo, el agregado de nitrógeno y por lo tanto el aumento en el contenido de proteína puede conducir a un aumento en el consumo de materia seca (Peyraud y Astigarraga, 1998).

De igual manera que con animales estabulados, el efecto de la fertilización nitrogenada sobre el consumo de animales en pastoreo puede presentar resultados variables. Delagarde *et al.* (1997) observaron que el consumo de raigrás perenne se incrementó a medida que aumentó el nivel de fertilización, a pesar de que el tratamiento más fertilizado presentó un porcentaje de MS inferior (16.2%) respecto del menos fertilizado (21.7%). El mayor consumo fue atribuido a una mayor biomasa de hojas en el tratamiento que recibió un mayor nivel de fertilización (2300 kgMO/ha) respecto del forraje menos fertilizado (1600 kgMO/ha), si bien las comparaciones entre tratamientos fueron realizadas a biomásas iguales (5000 kgMS/ha). La biomasa de hojas por unidad de superficie es un factor determinante del consumo en pastoreo (Peyraud y Astigarraga, 1998). La mayor biomasa de hojas afectó el comportamiento ingestivo a través de un aumento en la tasa de consumo (Delagarde *et al.*, 1997). El aumento en la biomasa de

hojas conlleva un aumento en el consumo de materia orgánica cuando la biomasa de hojas es inferior a 2000 kgMO/ha, por encima de ese valor, los aumentos en dicha biomasa no afectan el consumo de forraje en pastoreo (Peyraud *et al.*, 1996, citados por Peyraud y Astigarraga, 1998).

2.5. Efecto de condiciones climáticas imperantes en cortos períodos de tiempo sobre la concentración de carbohidratos no estructurales, proteína bruta y materia seca.

Como se mencionó en los párrafos anteriores, la composición química del forraje está sujeta a grandes fluctuaciones durante el crecimiento debido al desarrollo fenológico de las plantas, a la estación de crecimiento, a prácticas de manejo como la fertilización nitrogenada y a las variaciones en radiación y temperatura que ocurren durante el día. Dicha composición también es influenciada por los factores climáticos que ejercen su efecto en el corto plazo (Wulfes *et al.*, 1999). Entre estos factores se encuentra la baja heliofanía y la alta humedad, propias de los días nublados. El clima lluvioso y nublado afecta de manera negativa al crecimiento, palatabilidad y/o valor nutritivo de las pasturas (Burton, Jackson y Knox, 1959).

El sombreado disminuye el crecimiento, la concentración de MS y carbohidratos no estructurales y aumenta la concentración de PB en el forraje (Sicher *et al.*, 1984; Ciavarella *et al.*, 2000a,b). La baja producción de los animales que pastorean durante períodos nublados y lluviosos podría deberse al alto contenido de agua y al bajo contenido de carbohidratos no estructurales de las pasturas (Burton *et al.*, 1959). Burton *et al.* (1959) observaron que el cambio en la composición química debido a variaciones en la intensidad de luz fue de mayor magnitud en pasturas que recibieron un menor nivel de fertilización nitrogenada.

Ciavarella *et al.* (2000a,b) observaron que la concentración de MS y de carbohidratos no estructurales fue menor y que dicho nivel se mantuvo prácticamente invariable durante el día en pasturas sombreadas respecto de las no sombreadas. La pérdida de agua por evapotranspiración durante los días nublados podría verse reducida debido a una menor demanda del ambiente, lo cual contribuiría a un mayor contenido de agua en el forraje.

Ciavarella *et al.* (2000a) notaron que cuando las pasturas fueron descubiertas, la tasa de incremento en la concentración de carbohidratos durante el día fue mayor en las pasturas que fueron sombreadas respecto de las no sombreadas, por lo cual, si la cobertura se elimina temprano en el día, las pasturas que fueron sombreadas tienen la capacidad de recomponer el nivel de carbohidratos, alcanzando el nivel de aquellas que no fueron cubiertas. El incremento en el nivel de carbohidratos no estructurales se debería al efecto positivo de la intensidad de luz sobre la fotosíntesis (Auda *et al.*, 1966). Burton *et al.* (1959) observaron que la reducción en el porcentaje de MS debida a una menor intensidad de luz fue significativa sólo en el tratamiento menos fertilizado. Los autores concluyen que esa interacción se debe a que el tratamiento altamente fertilizado y sin sombreado presentó el máximo contenido de agua posible en el forraje.

Ciavarella *et al.* (2000a) observaron que el contenido de N en pasturas sombreadas fue mayor respecto de las no sombreadas, lo cual se debería a que la absorción de N ocurre a pesar de un menor requerimiento de dicho nutriente para el crecimiento.

2.6. Relación Carbohidratos No Estructurales/Proteína Bruta y Carbohidratos No Estructurales/Materia seca.

La estrecha relación entre el contenido de PB y el de carbohidratos solubles indica una interdependencia entre la actividad metabólica de los carbohidratos y el N (Delagarde *et al.*, 2000). Así, cuando el nivel de carbohidratos en el forraje aumenta, disminuye el porcentaje de PB. El coeficiente de correlación entre ambas variables es negativo (Humphreys, 1989; Radojevic *et al.*, 1994) y oscila entre -0.20 y -0.87 . De esta manera, la relación CNES/PB disminuye con el agregado de N (Nowakowski, 1962; Metson y Saunders, 1978) y aumenta con la edad (Nowakowski, 1962; Moller, Matthew y Wilson, 1993; Fulkerson *et al.*, 1998). Según la bibliografía revisada, la relación CNES/PB oscila entre 0.20 y 2.13, dependiendo de la especie, nivel de fertilización nitrogenada y edad del rebrote, entre otros. Como se mencionó anteriormente, el 80% de los compuestos nitrogenados y el 100% de los carbohidratos no estructurales se encuentran en el contenido celular. La asociación negativa entre el porcentaje de PB y carbohidratos no estructurales es inducida por factores ambientales y/o de manejo, aunque no necesariamente se observa entre especies, lo cual implica que es posible identificar

variedades o especies que presentan una elevada concentración de carbohidratos no estructurales conjuntamente con un alto nivel de PB (Humphreys, 1989; Radojevic *et al.*, 1994; Smith *et al.*, 1998).

Moller *et al.* (1993) observaron una importante coincidencia entre las curvas de MS y carbohidratos solubles en el forraje a través del tiempo. La correlación entre el porcentaje de carbohidratos no estructurales y el de MS es positiva y oscila entre 0.50 y 0.84 (Brown y Blaser, 1970; Wilman y Wright, 1978b).

2.7. Carbohidratos y proteínas en el crecimiento microbiano y la nutrición del rumiante.

Los carbohidratos y las proteínas son los principales nutrientes requeridos para el crecimiento microbiano en el rumen. La digestión de las proteínas en el rumen resulta, en primera instancia, en la producción de péptidos, los cuales pueden ser hidrolizados a aminoácidos y algunos de éstos a su vez, pueden ser desaminados produciendo amonio (Hoover y Stokes, 1991). El principal factor que controla la energía disponible para el crecimiento microbiano es la tasa de digestión de los carbohidratos, la cual depende de la solubilidad de los mismos, siendo los azúcares, el almidón y las pectinas los que más rápidamente se fermentan (Hoover y Stokes, 1991).

Además de la tasa de digestión, las cantidades relativas de los compuestos nitrogenados y carbohidratos es otro factor que podría limitar la fermentación y crecimiento microbiano y por lo tanto el desempeño de los animales. La baja relación CNES/PB de los forrajes frescos ha sido postulada como una de las posibles causas del fenómeno de las bajas ganancias de peso en el período otoño-invernal (Ribeiro *et al.*, 1981; Elizalde y Santini, 1992; Elizalde, 2003) como así también de la baja eficiencia con la que el nitrógeno de las pasturas es utilizado para sintetizar la proteína láctea (Trevaskis *et al.*, 2004). Sin embargo, esta condición por sí misma no garantiza la presencia de bajas ganancias de peso si no está asociada con bajos consumos de materia seca y/o energía metabolizable (Elizalde, 2003). Hoover y Stokes (1991) observaron que el rendimiento microbiano fue afectado por la relación entre el nivel de carbohidratos no estructurales y el nivel de proteína degradable en la dieta (Figura 5). Dentro de cada nivel de carbohidratos

no estructurales, el mayor rendimiento microbiano se obtuvo con el máximo nivel de proteína degradable (mínima relación *carbohidratos no estructurales/proteína degradable* – CNE/PD). Las dietas que contenían un mayor nivel de CNE resultaron en un mayor crecimiento microbiano, aunque una dieta con 54% de carbohidratos no estructurales implicaría un contenido aproximado de fibra detergente neutro (FDN) de 20% o menos (asumiendo un contenido de carbohidratos totales de 70-75% de la MS), el cual podría ser un valor demasiado bajo para los forrajes (Hoover y Stokes, 1991).

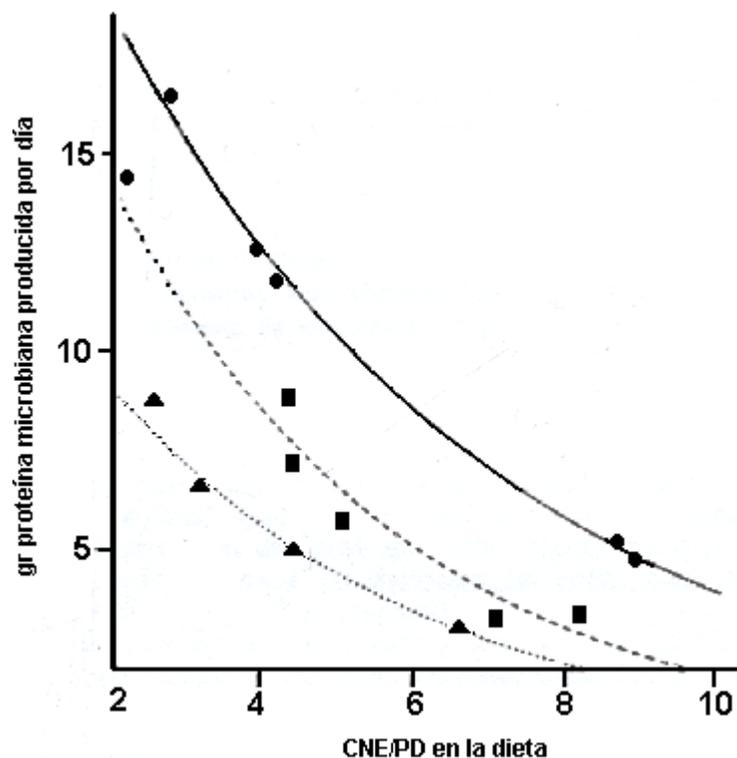


Figura 5. Efecto de la relación carbohidratos no estructurales/proteína degradable (CNE/PD) en la dieta sobre la producción de proteína microbiana. Dietas con 54% CNE (●), 37% CNE (■), 25% CNE (▲). Adaptado de Hoover y Stokes, 1991.

La proporción de carbohidratos no estructurales en la dieta está directamente relacionada con la cantidad de carbohidratos digeridos en el rumen (Hoover y Stokes, 1991). Así, a medida que el nivel de CNE es mayor, el consiguiente aumento en la cantidad de carbohidratos digeridos incrementará la producción de proteína microbiana a través de un mayor suministro de energía para el crecimiento de los microorganismos (Hoover y Stokes, 1991).

Como se observa en la Figura 5, el máximo rendimiento microbiano se obtiene con una relación CNE/PD cercana a 2/1, aunque esa misma relación representa un mayor crecimiento microbiano cuando el nivel de CNE es mayor. Por ello, también es importante conocer la concentración de carbohidratos no estructurales en la materia seca ya que la misma relación CNE/PD puede generar diferentes rendimientos microbianos según esté determinada por mayores o menores niveles de carbohidratos en la dieta. Hoover y Stokes (1991) observaron que la mayor producción de proteína microbiana se obtuvo con una relación CNE/PD de 2/1, aunque las curvas de la Figura 5 no indican que dicho valor se corresponda con un óptimo, con lo cual queda el interrogante de qué ocurriría con relaciones CNE/PD menores a 2/1 que son las que generalmente se presentan en los forrajes frescos. La relación CNE/PD puede ser 10 veces inferior a 2/1 en pasturas fertilizadas con N (Trevaskis y Fulkerson, 1999).

2.8. Relación entre el consumo de materia seca y el porcentaje de materia seca del forraje.

El contenido de MS del forraje afecta el consumo de MS, en un rango de 10 a 30% de MS (Vérité y Journet, 1970; van Vuuren *et al.*, 1992; Cabrera Estrada *et al.*, 2004). Al incrementar el contenido de agua interna en el forraje, la tasa de consumo de MS disminuye y, a pesar del incremento en el tiempo de consumo, el consumo total de MS disminuye (Kenney, Black y Colebrook, 1984; Cabrera Estrada *et al.*, 2004). Las variaciones en el contenido de MS de las pasturas dependen del contenido de agua interna y externa como lluvia o rocío (Cabrera Estrada *et al.*, 2003). La liberación del agua interna se produce mediante el proceso de ruptura celular que ocurre durante la masticación ingestiva, rumiación y fermentación y limita el consumo de MS (Cabrera Estrada *et al.*, 2004). El agua superficial sería tragada rápidamente durante la ingesta sin ser masticada con el resto del bolo y no tiene efectos detrimentales sobre el consumo de MS ni sobre el comportamiento ingestivo de los animales (Cabrera Estrada *et al.*, 2003; Cabrera Estrada *et al.*, 2004). Vérité y Journet (1970) observaron que el consumo de MS aumentaba 208 g/an/d por cada unidad porcentual de aumento en el contenido de MS, en un rango de 12 a 22% de MS. Cabrera Estrada *et al.* (2004) observaron un aumento de 134 g/an/d por cada unidad porcentual en un rango de 12 a 30% de MS. El efecto positivo

de un aumento en el porcentaje de MS sobre el consumo fue mayor cuando el tenor de MS del forraje era inferior a 16-18%. Por encima de dicho valor, un incremento en el tenor de MS provocó un aumento de menor magnitud en el consumo (Cabrera Estrada *et al.*, 2004) o no tuvo efectos significativos (Vérité y Journet, 1970). Holmes y Lang (1963) observaron que el consumo de MS se incrementó cuando el porcentaje de MS aumentó de 15.8% a 19.1% mientras que no hubo relación entre consumo y porcentaje de MS cuando este último aumentó de 18.3% a 21%.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar, período, material experimental y mediciones.

El ensayo se llevó a cabo durante el período marzo-septiembre de 2003, en las instalaciones de la Unidad Integrada INTA EEA Balcarce – Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Mar del Plata. Se utilizó un verdeo de raigrás anual (*Lolium multiflorum* L.) variedad Grandesa® (KWS) sembrado el 13/03/03. Las mediciones se realizaron en cinco fechas de corte durante el ciclo de crecimiento inicial y cuatro fechas de corte durante cada uno de los dos rebrotes siguientes (primer y segundo rebrote, respectivamente). En los tratamientos que recibieron fertilización, la misma consistió en una única aplicación (08/04/03) al voleo de 48 gr de nitrógeno en forma de urea granulada sobre parcelas de 1m x 4m, equivalente a 120 kgN/ha.

Las muestras de forraje destinadas a análisis químicos fueron tomadas con tijera eléctrica manual, cortando aproximadamente 20 cm lineales a nivel del suelo. La presencia de especies no sembradas fue despreciable. Cuando se detectaron plantas de especies diferentes a raigrás anual, las mismas fueron eliminadas de la muestra durante el muestreo. Cada muestra fue dividida en dos partes, una de ellas fue inmediatamente congelada con nitrógeno líquido (-196 °C), mientras que la otra fue introducida en una conservadora con hielo hasta finalizar el muestreo (aproximadamente 15 minutos). Ambas partes fueron conservadas en freezer hasta su posterior secado. La parte de la muestra que fue congelada con nitrógeno líquido fue secada mediante el uso de un liofilizador (FreeZone® LABCONCO Modelo 77530-01) y posteriormente procesada en un molino Willey con malla de 1mm. La parte restante fue secada en estufa con circulación forzada de aire a 60°C hasta peso constante (aproximadamente 48 h) para la determinación del contenido de materia seca. Las determinaciones se realizaron en la totalidad del material vivo (planta entera).

Simultáneamente con la toma de muestras para análisis químicos, se realizaron mediciones de biomasa (kgMS/ha) en cada una de las combinaciones entre fechas de corte y niveles de fertilización evaluados (13 fechas x 2 niveles de nitrógeno) en parcelas de 1mx3m. El forraje se cosechó con una segadora experimental, cortando aproximadamente a 5 cm del suelo. Los cortes se realizaron en forma aproximadamente

semanal, siguiendo la metodología propuesta por Anslow y Green (1967). En el Cuadro 1 se presentan las condiciones ambientales en cada fecha de corte registradas en la estación meteorológica de la EEA INTA Balcarce.

Cuadro 1. Heliofanía efectiva (horas), radiación global (Mj/m²/d), humedad relativa (%) y temperatura (°C) durante los días de muestreo y radiación del período (Mj/m²/d) y temperatura del período (°C) en cada ciclo de crecimiento (inicial, primer y segundo rebotes). En cursiva se indica la radiación y temperatura del período promedios de los años 1971-2004.

Ciclo	Serie de corte ¹	Fecha de corte	Heliof. Efect.	Radiación	Humedad Relativa	Temp.	Radiación período ²		Temperatura período ²	
Inicial (otoño)	S1	19 Mayo	5.9	8.3	86	7.6	8.1	8.7	12.9	12.8
	S2	26 Mayo	7.3	9.0	71	9.3	7.7	8.3	12.6	12.6
	S3	30 Mayo	2.8	5.3	80	16.2	7.7	8.0	12.5	12.3
	S4	17 Junio	6.1	7.2	78	10.7	7.3	7.0	11.7	11.4
	S5	24 Junio	4.6	6.1	77	10.3	5.6	6.8	9.8	11.0
1er. rebrote (inicio de invierno)	S1	24 Junio	4.6	6.1	77	10.3	6.0	5.1	10.1	8.8
	S2	02 Julio	0	2.8	90	3.7	5.7	5.0	9.6	8.4
	S3	10 Julio	2.5	4.8	90	3.4	5.7	4.8	8.8	7.8
	S4	22 Julio	1.8	4.6	73	4.6	5.6	5.1	8.2	7.5
2do. rebrote (invierno)	S1	14 Agos.	4.9	8.6	77	6.3	6.4	5.8	8.1	7.5
	S2	21 Agos.	8.2	12.5	70	11.4	7.1	6.3	8.5	7.7
	S3	04 Sept.	0	5.0	88	15.4	8.1	7.1	8.5	8.2
	S4	11 Sept.	3.3	9.2	57	14.2	8.5	7.7	9.1	8.5

¹Serie de corte equivale a parcela de corte.

²La temperatura y radiación del período corresponden a la temperatura y radiación promedio durante el período de crecimiento de cada serie de corte. El período de crecimiento de cada serie de corte se corresponde con el período que transcurrió desde la fecha de fertilización hasta que cada serie fue cortada por primera vez en el caso del ciclo inicial o desde la fecha en que cada serie fue cortada en el ciclo anterior hasta que fue cortada nuevamente en el caso del primer y segundo rebotes.

3.2. Diseño experimental y tratamientos.

El diseño experimental utilizado fue un *Parcelas Divididas con Bloques Completos al azar* (Kuehl, 1994). Dentro de cada uno de los dos bloques utilizados, se distribuyeron al azar 5 parcelas principales, cada una de las cuales representó una “Serie de Corte”. Dentro de cada Serie de Corte, se asignaron aleatoriamente dos niveles de fertilización nitrogenada (subparcela de 1m x 4m). Sobre la base de este diseño, se tomaron los datos que fueron analizados de cuatro maneras diferentes. En cada uno de los análisis, las variables analizadas fueron porcentaje de materia seca (%MS), porcentaje de

carbohidratos no estructurales solubles (%CNES) y porcentaje de proteína bruta (%PB). La Serie de Corte representó un factor o efecto diferente según el análisis contemplado. En la Figura 6 se puede observar un diagrama de campo del diseño empleado, representado para uno de los dos bloques utilizados. En cada subparcela se realizaron mediciones de biomasa (utilizando una superficie de 1mx3m) y se tomaron las muestras destinadas a la obtención de datos para los análisis I y II (en una superficie de 1mx0.5m) y para los análisis III y IV (1mx0.5m). Los datos fueron analizados mediante el procedimiento MIXED (SAS, 1999). El nivel de significancia utilizado fue del 10%.

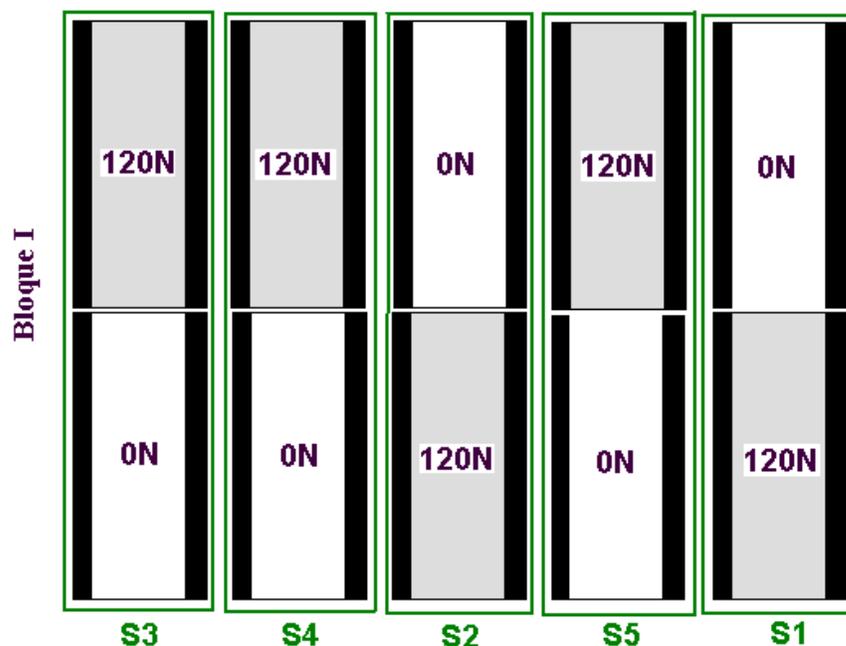


Figura 6. Diagrama de campo del diseño en Parcelas Divididas con Bloques Completos al azar. S1-S5 indican las Series de Corte, distribuidas al azar dentro de cada Bloque. 0N y 120N indican los niveles de fertilización nitrogenada en cada subparcela de 1mx4m. Los bordes negros en cada parcela indican bordura. Un esquema similar se utilizó en el Bloque II.

3.2.1. Análisis I: Evaluación del efecto *fecha de corte, nivel de fertilización nitrogenada y hora del día* dentro de cada ciclo de crecimiento.

Las mediciones se realizaron durante el ciclo de crecimiento inicial, primer y segundo rebrotes. En cada ciclo de crecimiento se evaluó el efecto de la fecha de corte (representada por la Serie de Corte), del nivel de fertilización nitrogenada y de la hora del día. Dentro de cada ciclo, los datos fueron analizados teniendo en cuenta un diseño

experimental en *Parcelas Subdivididas con Bloques Completos al azar* (Kuehl, 1994). Se realizó un análisis de este tipo para cada uno de los tres ciclos estudiados. En los casos donde la fecha y/o la hora tuvieron efectos significativos ($P < 0.10$) se trazaron curvas de respuesta mediante contrastes ortogonales (polinomios ortogonales). Los tratamientos quedaron definidos en función del siguiente arreglo factorial:

- *Parcela Principal*: efecto de la fecha de corte. Se contemplaron cinco fechas de corte durante el ciclo de acumulación inicial de forraje y cuatro fechas de corte en cada uno de los dos rebrotes evaluados. La fecha de corte se consideró como cantidad de días a partir del 1/1/03.
- *Subparcela (1mx4m)*: efecto del nivel de fertilización nitrogenada. Se evaluaron dos niveles de fertilización nitrogenada, 0 kgN/ha y 120 kgN/ha.
- *Sub-subparcela*: efecto de la hora del día. Se evaluaron 6 horarios en el día a partir de las 8 h y hasta las 18 h, con muestreos cada dos horas.

Esto implica que en cada fecha de corte, se tomaron muestras de forraje en las subparcelas correspondientes a los dos niveles de fertilización y en cada una de estas subparcelas se realizaron muestreos en seis momentos del día diferentes.

El modelo que describe a la variable respuesta es:

$$Y_{ijkl} = \mu + \beta_i + \tau_j + \varepsilon(\mathbf{a}) + \rho_k + (\tau\rho)_{jk} + \varepsilon(\mathbf{b}) + \delta_l + (\tau\delta)_{jl} + (\rho\delta)_{kl} + (\tau\rho\delta)_{jkl} + e_{ijkl}$$

Y_{ijkl} : variable observada.

μ : media general.

β_i : efecto del i-ésimo bloque.

τ_j : efecto de la j-ésima fecha de corte.

$\varepsilon(\mathbf{a})$: interacción entre bloque y fecha de corte. Representa el término de error que se utiliza para testear el efecto de bloque y de fecha de corte.

ρ_k : efecto del k-ésimo nivel de nitrógeno.

$(\tau\rho)_{jk}$: interacción entre fecha de corte y nivel de nitrógeno.

$\varepsilon(\mathbf{b})$: representa el término de error que se utiliza para testear el efecto del nivel de nitrógeno y la interacción entre fecha de corte y nivel de nitrógeno. Surge de sumar la interacción entre bloque y nivel de nitrógeno y la interacción entre bloque, fecha y nivel de nitrógeno.

δ_l : efecto del l-ésimo horario.

$(\tau\delta)_{jl}$: interacción entre fecha de corte y horario.

$(\rho\delta)_{kl}$: interacción entre nivel de nitrógeno y horario.

$(\tau\rho\delta)_{jkl}$: interacción entre fecha de corte, nivel de nitrógeno y horario.

e_{ijkl} : error experimental.

Con el objetivo de evaluar las posibles interacciones entre la hora del día y el ciclo de crecimiento, se trazaron curvas de respuesta mediante polinomios ortogonales para el efecto de hora dentro de cada ciclo. Cuando los polinomios resultaron de diferente orden, se asumió que el efecto hora fue distinto entre ciclos. Cuando los mismos resultaron del mismo orden, éstos fueron comparados mediante el uso de variables dummy dentro del contexto del procedimiento REG (SAS, 1999) a través de análisis de coincidencia (ordenadas al origen y pendientes iguales) y paralelismo (ordenadas al origen diferentes y pendientes iguales).

3.2.2. Análisis II: Evaluación del efecto *ciclo de crecimiento, fecha de corte y nivel de nitrógeno*.

Este análisis se llevó a cabo con el objetivo de evaluar el efecto del ciclo de crecimiento y las posibles diferencias del efecto de la fecha de corte y la fertilización nitrogenada entre los distintos ciclos de crecimiento (ciclo inicial, primer y segundo rebrotes). A diferencia del Análisis I, la fecha de corte no fue considerada como días desde el 1/1/03 porque de esa manera debería anidarse dentro del ciclo de crecimiento, impidiendo evaluar la interacción entre la fecha y el ciclo de crecimiento. Por ello, en el Análisis II, la fecha fue considerada como ordinal, del 1 al 4 en cada ciclo de crecimiento,

correspondiéndose con la primera, segunda, tercera y cuarta fecha de corte de cada ciclo, respectivamente. El análisis de los datos se realizó según un diseño en *Parcelas Subdivididas en el tiempo con Bloques Completos al azar* (Steel y Torrie, 1988). Este diseño permite contemplar la estructura de *medidas repetidas en el tiempo* que se presenta a nivel de subparcela, ya que cada ciclo de crecimiento fue evaluado sobre la misma subparcela donde fueron evaluados los otros dos ciclos. El dato correspondiente a cada combinación de fecha de corte, nivel de nitrógeno y ciclo de crecimiento surgió de promediar los seis valores correspondientes a los distintos horarios en cada fecha de muestreo. Los tratamientos quedaron definidos en función del siguiente arreglo de factores:

- *Parcela principal*: efecto de la fecha de corte (representado por la Serie de Corte). Se evaluaron cuatro fechas de corte, 1, 2, 3 y 4.
- *Subparcela*: efecto del nivel de fertilización nitrogenada. Se evaluaron dos niveles de fertilización nitrogenada, 0 kgN/ha y 120 kgN/ha.
- *Sub-subparcela*: efecto del ciclo de crecimiento. Se evaluaron tres ciclos de crecimiento, inicial, primer rebrote y segundo rebrote.

El modelo que describe a la variable respuesta es:

$$Y_{ijkl} = \mu + \beta_i + \tau_j + \varepsilon(\mathbf{a}) + \rho_k + (\tau\rho)_{jk} + \varepsilon(\mathbf{b}) + \delta_l + (\tau\delta)_{jl} + (\rho\delta)_{kl} + (\tau\rho\delta)_{jkl} + e_{ijkl}$$

Y_{ijkl} : variable observada.

μ : media general.

β_i : efecto del i-ésimo bloque.

τ_j : efecto de la j-ésima fecha de corte.

$\varepsilon(\mathbf{a})$: interacción entre bloque y fecha de corte. Representa el término de error que se utiliza para testear el efecto de bloque y de fecha de corte.

ρ_k : efecto del k-ésimo nivel de nitrógeno.

$(\tau\rho)_{jk}$: interacción entre fecha de corte y nivel de nitrógeno.

$\varepsilon(\mathbf{b})$: representa el término de error que se utiliza para testear el efecto del nivel de nitrógeno y la interacción entre fecha de corte y nivel de nitrógeno. Surge de sumar la interacción entre bloque y nivel de nitrógeno y la interacción entre bloque, fecha y nivel de nitrógeno.

δ_l : efecto del l-ésimo ciclo de crecimiento.

$(\tau\delta)_{jl}$: interacción entre fecha de corte y ciclo de crecimiento.

$(\rho\delta)_{kl}$: interacción entre nivel de nitrógeno y ciclo.

$(\tau\rho\delta)_{jkl}$: interacción triple.

e_{ijkl} : error experimental.

3.2.3. Análisis III: Evaluación del efecto del nivel de heliofanía (nublado o soleado), nivel de nitrógeno y cantidad de días soleados o nublados (1, 2 y 3 días) durante el ciclo de acumulación inicial de forraje y durante el segundo rebrote.

Este análisis se realizó con el objetivo de evaluar el efecto de las condiciones ambientales imperantes en cortos períodos de tiempo sobre la composición química del forraje. Es decir, el objetivo fue estimar el impacto de una sucesión de días nublados respecto del efecto de una sucesión de días soleados y si ese efecto era dependiente del nivel de fertilización aplicado. Para ello se debió contar con la ocurrencia de al menos 3 días nublados consecutivos, los cuales debieron ser sucedidos o anteceditos por al menos 3 días soleados consecutivos. La confirmación de día nublado o soleado se realizó teniendo en cuenta los datos de heliofanía registrados por la estación meteorológica. Para que el primer día nublado (o soleado) de la sucesión refleje efectivamente el efecto de sólo un día nublado (o soleado) y no más, se verificó que la heliofanía del día anterior fuese contundentemente contrastante.

En función de las restricciones impuestas, se contó con una sucesión de tres días nublados y otra de tres días soleados durante el ciclo de crecimiento inicial y lo mismo durante el segundo rebrote. Las condiciones ambientales en cada fecha de corte se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Condiciones climáticas durante las dos sucesiones de días nublados y las dos de días soleados.

Ciclo	Serie de corte	Nivel de heliof.	Fecha de corte	Cant. de días	Radiación (Mj/m ² /d)	Heliofanía efectiva (horas)	H° Relat. (%)	Temp. (°C)
Inicial (otoño)	S1	Nublado	20 Mayo	1	3.3	0	98	11.2
			21 Mayo	2	3.3	0	100	13.5
			22 Mayo	3	4.9	2.0	92	13.0
	S3	Soleado	02 Junio	1	8.2	7.0	83	8.5
			03 Junio	2	8.2	7.0	81	5.6
			04 Junio	3	7.0	5.4	76	5.9
2do. rebrote (invierno)	S1	Nublado	04 Agos.	1	3.6	0	100	11.5
			05 Agos.	2	3.6	0	100	10.4
			06 Agos.	3	3.7	0	98	8.2
	S2	Soleado	21 Agos.	1	12.5	8.2	70	11.4
			22 Agos.	2	11.8	7.5	76	5.1
			23 Agos.	3	13.2	8.7	65	5.3

Una de las condiciones impuestas durante la toma de datos fue que dentro de un mismo ciclo de crecimiento la sucesión de días nublados no estuviese distante en el tiempo de la sucesión de días soleados, de manera de minimizar el posible efecto de diferencias en el crecimiento entre el forraje sometido a uno y otro nivel de heliofanía. En el caso del ciclo de acumulación inicial, la diferencia en cuanto a días de crecimiento entre la sucesión de días nublados (S1) y la de días soleados (S3) fue de 13 días. Dicha diferencia se obtiene considerando que la S1 llevaba 42 días de crecimiento y la S3 55 días, contando desde el 8/4/03, día en que se realizó la fertilización, hasta el 20/5/03 en el caso de la S1 y hasta el 2/6/03 en el caso de la S3 (Cuadro 2). Durante el segundo rebrote, la diferencia fue de 9 días, si se considera que la S1 llevaba 40 días de crecimiento desde que fuera cortada el 24/6/03 (Cuadro 1) y la S2 presentaba 49 días de crecimiento desde su corte anterior el 2/7/03 (Cuadro 1).

En cada ciclo de crecimiento se evaluó el efecto del nivel de heliofanía definido como Nublado o Soleado (representado por la Serie de Corte), del nivel de fertilización nitrogenada y de la cantidad de días nublados o soleados (1, 2 y 3 días). Dentro de cada ciclo, los datos fueron analizados según un diseño experimental en *Parcelas Subdivididas con Bloques Completos al azar* (Kuehl, 1994). Se realizó un análisis de este tipo para cada uno de los dos ciclos estudiados. Las medias se compararon a través del test de Tukey. Los tratamientos quedaron definidos en función del siguiente arreglo factorial:

- *Parcela Principal*: efecto del nivel de heliofanía, nublado o soleado.
- *Subparcela (1mx4m)*: efecto del nivel de fertilización nitrogenada, 0 kgN/ha y 120 kgN/ha.
- *Sub-subparcela*: efecto de la cantidad de días nublados o soleados, 1, 2 y 3 días. Las muestras fueron tomadas a las 16 h.

El modelo que describe a la variable respuesta es:

$$Y_{ijkl} = \mu + \beta_i + \tau_j + \varepsilon(\mathbf{a}) + \rho_k + (\tau\rho)_{jk} + \varepsilon(\mathbf{b}) + \delta_l + (\tau\delta)_{jl} + (\rho\delta)_{kl} + (\tau\rho\delta)_{jkl} + \mathbf{e}_{ijkl}$$

Y_{ijkl} : variable observada.

μ : media general.

β_i : efecto del i -ésimo bloque.

τ_j : efecto del j -ésimo nivel de heliofanía.

$\varepsilon(\mathbf{a})$: interacción entre bloque y heliofanía. Representa el término de error que se utiliza para testear el efecto de bloque y de heliofanía.

ρ_k : efecto del k -ésimo nivel de nitrógeno.

$(\tau\rho)_{jk}$: interacción entre nivel de heliofanía y nivel de nitrógeno.

$\varepsilon(\mathbf{b})$: representa el término de error que se utiliza para testear el efecto del nivel de nitrógeno y la interacción entre heliofanía y nivel de nitrógeno. Surge de sumar la interacción entre bloque y nivel de nitrógeno y la interacción entre bloque, heliofanía y nivel de nitrógeno.

δ_l : efecto de la l -ésima cantidad de días.

$(\tau\delta)_{jl}$: interacción entre heliofanía y cantidad de días.

$(\rho\delta)_{kl}$: interacción entre nivel de nitrógeno y cantidad de días.

$(\tau\rho\delta)_{jkl}$: interacción triple.

\mathbf{e}_{ijkl} : error experimental.

3.2.4. Análisis IV: Evaluación del efecto del *nivel de nitrógeno, cantidad de días (1, 2 y 3 días) y ciclo de crecimiento* en cada nivel de heliofanía (nublado o soleado).

Este análisis se realizó con el objetivo de evaluar si el efecto de una sucesión de días nublados (o soleados) sobre la composición química del forraje era diferente según ocurriese durante un ciclo inicial o un segundo rebrote y si dicho efecto era dependiente del nivel de fertilización aplicado. Se utilizaron los mismos datos que en el análisis III, con la diferencia de que en dicho análisis los datos se analizaron por ciclo de crecimiento (inicial y segundo rebrote) y en el análisis IV se analizaron por nivel de heliofanía (nublado y soleado). En cada nivel de heliofanía se evaluó el efecto del nivel de fertilización nitrogenada, de la cantidad de días con determinado nivel de heliofanía y del ciclo de crecimiento. Las medias fueron comparadas mediante el test de Tukey.

En el caso de la sucesión de días nublados, los datos fueron analizados teniendo en cuenta un diseño en *Parcelas Subdivididas en el tiempo con Bloques Completos al azar* (Steel y Torrie, 1988). Las mediciones repetidas en el tiempo se presentaron a nivel de subparcela. En este caso, la Serie de Corte no representó ningún efecto o factor ya que tanto en el ciclo inicial como en el segundo rebrote se utilizó la S1 (Cuadro 2). La sucesión de días nublados llevaba 42 días de crecimiento en el ciclo inicial y 40 días en el segundo rebrote por lo cual se puede considerar que el posible efecto de la diferencia en días de crecimiento fue despreciable. Los tratamientos quedaron definidos por el siguiente arreglo factorial:

- *Parcela principal*: efecto del nivel de nitrógeno, 0 kgN/ha y 120 kgN/ha.
- *Subparcela*: efecto de la cantidad de días nublados, 1, 2 y 3.
- *Sub-subparcela*: efecto del ciclo de crecimiento, inicial y segundo rebrote.

El modelo utilizado es:

$$Y_{ijkl} = \mu + \beta_i + \tau_j + \varepsilon(\mathbf{a}) + \rho_k + (\tau\rho)_{jk} + \varepsilon(\mathbf{b}) + \delta_l + (\tau\delta)_{jl} + (\rho\delta)_{kl} + (\tau\rho\delta)_{jkl} + e_{ijkl}$$

Y_{ijkl} : variable observada.

μ : media general.

β_i : efecto del i-ésimo bloque.

τ_j : efecto del j-ésimo nivel de nitrógeno.

$\varepsilon(\mathbf{a})$: interacción entre bloque y nitrógeno. Representa el término de error que se utiliza para testear el efecto de bloque y de nitrógeno.

ρ_k : efecto de la k-ésima cantidad de días nublados.

$(\tau\rho)_{jk}$: interacción entre nivel de nitrógeno y cantidad de días nublados.

$\varepsilon(\mathbf{b})$: representa el término de error que se utiliza para testear el efecto de la cantidad de días nublados y de la interacción entre nivel de nitrógeno y cantidad de días. Surge de sumar la interacción entre bloque y cantidad de días y la interacción entre bloque, nivel de nitrógeno y cantidad de días.

δ_l : efecto del l-ésimo ciclo de crecimiento.

$(\tau\delta)_{jl}$: interacción entre nivel de nitrógeno y ciclo.

$(\rho\delta)_{kl}$: interacción entre cantidad de días y ciclo.

$(\tau\rho\delta)_{jkl}$: interacción triple.

\mathbf{e}_{ijkl} : error experimental.

En el caso de la sucesión de días soleados, los datos fueron analizados teniendo en cuenta un diseño en *Parcelas Subdivididas con Bloques Completos al azar* (Kuehl, 1994). La sucesión de días soleados llevaba 55 días de crecimiento en el ciclo inicial y 49 días en el segundo rebrote. Esto determina una diferencia de 6 días de crecimiento, la cual se considera de escasa o nula magnitud teniendo en cuenta la época del año (bajas temperaturas que desaceleran el crecimiento). Los tratamientos quedaron definidos por el siguiente arreglo factorial:

- *Parcela principal*: efecto del ciclo de crecimiento, inicial y segundo rebrote. Este efecto estuvo representado por la Serie de Corte, S3 en el ciclo inicial y S2 en el segundo rebrote (Cuadro 2).
- *Subparcela*: efecto del nivel de fertilización, 0 kgN/ha y 120 kgN/ha.

- *Sub-subparcela*: efecto de la cantidad de días soleados, 1, 2 y 3 días.

El modelo que describe a la variable respuesta es:

$$Y_{ijkl} = \mu + \beta_i + \tau_j + \varepsilon(\mathbf{a}) + \rho_k + (\tau\rho)_{jk} + \varepsilon(\mathbf{b}) + \delta_l + (\tau\delta)_{jl} + (\rho\delta)_{kl} + (\tau\rho\delta)_{jkl} + e_{ijkl}$$

Y_{ijkl} : variable observada.

μ : media general.

β_i : efecto del i-ésimo bloque.

τ_j : efecto del j-ésimo ciclo de crecimiento.

$\varepsilon(\mathbf{a})$: interacción entre bloque y ciclo. Representa el término de error que se utiliza para testear el efecto de bloque y de ciclo.

ρ_k : efecto del k-ésimo nivel de fertilización.

$(\tau\rho)_{jk}$: interacción entre ciclo y nivel de nitrógeno.

$\varepsilon(\mathbf{b})$: representa el término de error que se utiliza para testear el efecto del nitrógeno y de la interacción entre ciclo y nivel de nitrógeno. Surge de sumar la interacción entre bloque y nitrógeno y la interacción entre bloque, ciclo y nivel de nitrógeno.

δ_l : efecto de la l-ésima cantidad de días soleados.

$(\tau\delta)_{jl}$: interacción entre ciclo y cantidad de días.

$(\rho\delta)_{kl}$: interacción entre nitrógeno y cantidad de días.

$(\tau\rho\delta)_{jkl}$: interacción triple.

e_{ijkl} : error experimental.

La posibilidad de realizar un análisis global que reuniese al análisis III y IV, es decir, que tuviese en cuenta el nivel de heliofanía, el nivel de fertilización, la cantidad de días y el ciclo de crecimiento fue descartada porque, debido al momento en que ocurrieron cada una de las sucesiones, quedaron definidos diferentes diseños experimentales en uno y otro caso. Por ejemplo, en el caso de las sucesiones de días nublados, al utilizarse la S1 tanto en el ciclo inicial como en el segundo rebrote, el ciclo de crecimiento quedó definido

en la sub-subparcela como una medida repetida en el tiempo, mientras que el nivel de nitrógeno quedó asignado como parcela principal. En el caso de las sucesiones de días soleados, al utilizarse series de corte diferentes en un ciclo y en otro, la serie definió al ciclo de crecimiento, quedando éste asignado a la parcela principal y el nivel de nitrógeno a la subparcela.

3.3. Análisis químicos.

Para minimizar las pérdidas de materiales solubles, la parte de cada muestra que fue destinada a la determinación del contenido de PB (%) y CNES (%) fue congelada con N líquido inmediatamente luego de ser cortada, posteriormente fue conservada en freezer y luego fue secada en frío mediante el uso de un liofilizador (Raguse y Smith, 1965; Wilman y Wright, 1978b; Fulkerson *et al.*, 1998).

La determinación del contenido de CNES se realizó mediante la técnica descrita por Pichard y Alcalde (1990) y el contenido de N se determinó a través de la técnica de combustión en atmósfera con oxígeno ultrapuro (Horneck y Miller, 1998). La concentración de PB se estimó multiplicando el porcentaje de N por 6.25.

La otra parte de cada muestra fue enfriada con hielo inmediatamente luego de ser cortada, conservada en freezer y posteriormente fue secada en estufa a 60 °C con circulación forzada de aire hasta peso constante (aproximadamente 48 h). Esta parte de cada muestra fue utilizada para la determinación del contenido de MS (%) en el forraje fresco. Con el objetivo de reducir la cantidad de agua externa en el forraje fresco, principalmente en los horarios de la mañana, y optimizar la estimación del contenido de materia seca, las muestras fueron agitadas manualmente durante el muestreo. Una vez conservadas en freezer y previo a la determinación del peso fresco, parte del agua externa restante que se encontraba congelada también fue eliminada mediante agitación manual. De esta manera, las diferencias en %MS observadas durante el presente ensayo se debieron principalmente a diferencias en el contenido de agua interna que es, según la bibliografía, la única que limitaría el consumo de materia seca. Esto es particularmente importante en las comparaciones entre fechas de corte y entre horarios del día, donde las condiciones de humedad relativa y rocío pueden ser muy diferentes.

4. RESULTADOS.

4.1. Análisis I: Evaluación del efecto *fecha de corte, nivel de fertilización nitrogenada y hora del día* dentro de cada ciclo de crecimiento.

4.1.1. Ciclo inicial de crecimiento – Otoño.

En el Cuadro 3 se presentan los resultados obtenidos durante el ciclo inicial, referidos al efecto de la fecha de corte, nivel de fertilización nitrogenada y hora del día sobre el %MS, %CNES y %PB. En el Cuadro 4 se presenta el %MS promedio para cada uno de los tratamientos.

El %MS se incrementó durante la mañana, desde 13.4% a las 8h hasta 15.6% a las 14h y luego se mantuvo constante (Cuadro 4). El aumento en el %MS durante el día fue dependiente de la fecha de corte (Cuadro 3). En algunas fechas (19/5, 30/5 y 17/6), el aumento en el %MS durante el día fue lineal, mientras que en otras fechas el aumento siguió una tendencia cuadrática (Cuadro 3 y Figura 7), manteniéndose constante (26/5) o disminuyendo ligeramente (24/6) a partir de las 16h. La magnitud de los cambios en el %MS durante el día osciló entre 1.5 y 3.2 unidades porcentuales (Figura 7).

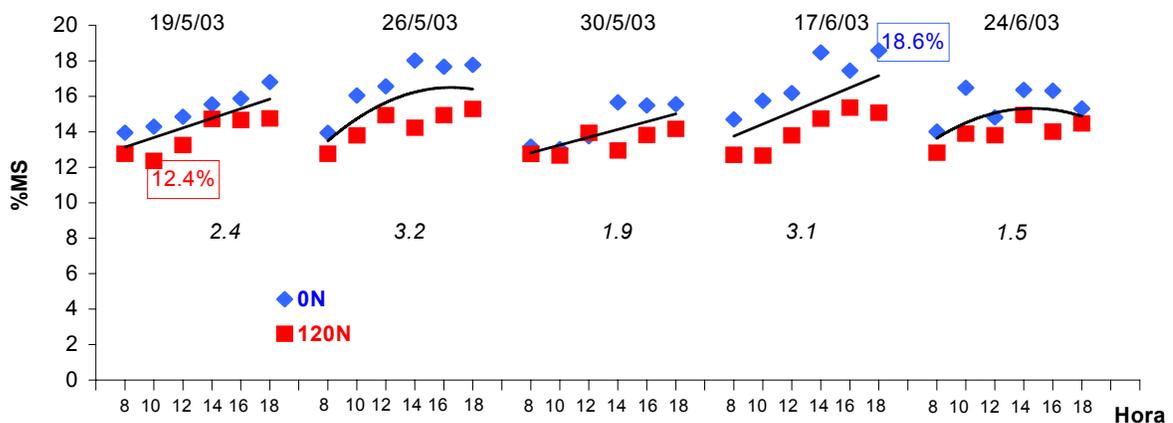


Figura 7. Interacción entre la fecha de corte y la hora del día sobre el porcentaje de materia seca durante el ciclo inicial de crecimiento a dos niveles de fertilización (0 y 120 kgN/ha). En cursiva se indica la diferencia en cuanto al %MS entre las 8h y las 18h (unidades porcentuales). En recuadros se indica el valor máximo y mínimo del ciclo.

Cuadro 3. Efecto de la fecha de corte, nivel de nitrógeno (0 y 120 kgN/ha) y hora del día sobre el porcentaje de materia seca (MS), carbohidratos no estructurales solubles (CNES) y proteína bruta (PB) de raigrás anual durante el ciclo inicial de acumulación de forraje.

EFECTO	MS		CNES			PB	
	<i>P</i>		<i>P</i>			<i>P</i>	
Fecha	ns ¹		ns			ns	
Nitrógeno	< 0.01		< 0.01			< 0.01	
Fecha*Nitrógeno	ns		ns			ns	
Hora	< 0.01		< 0.01			< 0.01	
Fecha*Hora	< 0.01		< 0.01			0.04	
Nitrógeno*Hora	0.02		ns			ns	
Fecha*Nitrógeno*Hora	ns		ns			ns	
	Fecha*Hora		Fecha*Hora			Fecha*Hora	
		Lin ² Cua ³		Lin ² Cua ³ Cúb ⁴		Lin ² Cua ³	
	19/5/03	< 0.01 ns	19/5/03	< 0.01 ns ns	19/5/03	< 0.01 ns	
	26/5/03	< 0.01 < 0.01	26/5/03	< 0.01 ns ns	26/5/03	0.09 ns	
	30/5/03	< 0.01 ns	30/5/03	ns ns ns	30/5/03	0.06 ns	
	17/6/03	< 0.01 ns	17/6/03	ns ns 0.01	17/6/03	ns ns	
	24/6/03	< 0.01 < 0.01	24/6/03	ns < 0.01 ns	24/6/03	ns < 0.01	
		Nitrógeno*Hora					
		Lin ² Cua ³					
	0 N	< 0.01 < 0.01					
	120 N	< 0.01 0.10					

¹ ns *P* > 0.10

² contraste Lineal

³ contraste Cuadrático

⁴ contraste Cúbico

Cuadro 4. Contenido de materia seca (%) en el forraje de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno (N) y horas del día durante el período inicial de acumulación de forraje.

FECHA	N (kg/ha)	HORA						Media ¹	EEM ²
		8	10	12	14	16	18		
19/5/03	0	14.0	14.3	14.9	15.6	15.9	16.8	14.5	0.53
	120	12.8	12.4	13.3	14.7	14.7	14.8		
26/5/03	0	13.9	16.0	16.6	18.0	17.7	17.8	15.5	0.53
	120	12.8	13.8	14.9	14.2	14.9	15.3		
30/5/03	0	13.2	13.0	13.8	15.7	15.5	15.6	13.9	0.53
	120	12.8	12.7	13.9	13.0	13.8	14.2		
17/6/03	0	14.7	15.8	16.2	18.5	17.5	18.6	15.5	0.53
	120	12.7	12.7	13.8	14.7	15.4	15.1		
24/6/03	0	14.0	16.5	14.8	16.4	16.3	15.3	14.8	0.53
	120	12.8	13.9	13.8	15.0	14.0	14.5		
Media ¹		13.4	14.1	14.6	15.6	15.6	15.8		
EEM ²		0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27		
Media ¹	0 N	120 N							
	15.7	13.9							
EEM ²	0.30	0.30							

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

El efecto de la hora del día sobre el %MS también fue dependiente del nivel de nitrógeno aplicado (interacción N*Hora significativa, Cuadro 3). Este aumento fue mayor cuando no se aplicó nitrógeno (2.9 unidades porcentuales, Figura 8) respecto del tratamiento fertilizado (2.0 unidades porcentuales).

La fertilización nitrogenada disminuyó el %MS (15.7% y 13.9% para 0 y 120 N, respectivamente; Cuadro 4). La diferencia en el %MS entre los dos niveles de N fue mayor a medida que transcurrieron las horas del día (interacción N*Hora significativa, Cuadro 3) siendo de 1.2 y 2.1 unidades porcentuales a las 8h y a las 18h, respectivamente (Figura 8).

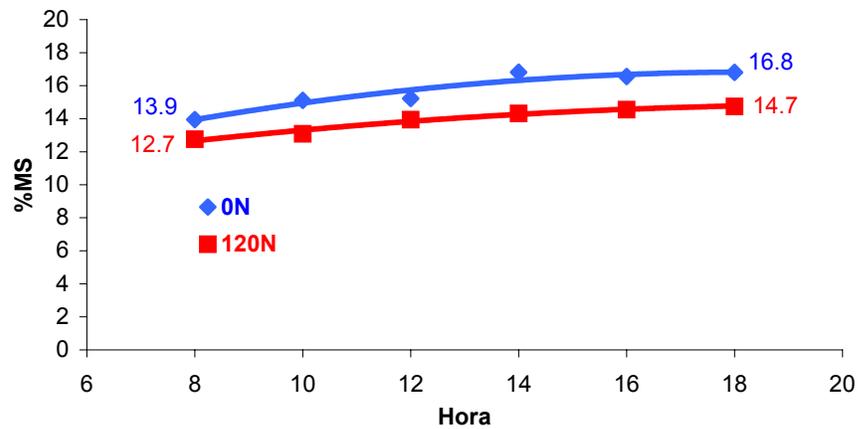


Figura 8. Interacción entre el nivel de nitrógeno (0 y 120 kgN/ha) y la hora del día sobre el porcentaje de materia seca durante el ciclo inicial de crecimiento.

A medida que transcurrieron las fechas de corte, el %MS se mantuvo sin cambios significativos, oscilando entre 13.9% y 15.5% (Cuadro 4).

Cuadro 5. Contenido de carbohidratos no estructurales solubles (%) en la materia seca de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno (N) y horas del día durante el período inicial de acumulación de forraje.

FECHA	N (kg/ha)	HORA						Media ¹	EEM ²	
		8	10	12	14	16	18			
19/5/03	0	19.7	23.8	24.1	25.1	28.9	28.4	22.5	1.55	
	120	16.7	18.4	18.6	23.1	23.2	19.8			
26/5/03	0	25.9	30.6	28.8	30.2	29.9	34.3	24.8	1.55	
	120	15.5	16.2	17.2	24.9	22.0	22.1			
30/5/03	0	22.7	26.2	21.9	23.6	26.0	22.6	20.6	1.55	
	120	15.9	19.5	19.0	14.4	19.3	16.6			
17/6/03	0	28.7	27.5	25.0	30.0	28.1	27.5	24.1	1.55	
	120	22.2	15.7	18.1	21.7	22.6	22.9			
24/6/03	0	19.6	27.4	23.3	29.0	24.1	21.9	21.3	1.55	
	120	14.0	20.2	19.8	21.0	18.1	17.8			
Media ¹		20.1	22.5	21.6	24.3	24.2	23.4			
EEM ²		0.88	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88			
Media ¹	0 N	120 N								
	26.1	19.2								
EEM ²	0.79	0.79								

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

El %CNES aumentó con el transcurso de las horas, con un valor mínimo a las 8h (20.1%), un máximo a las 14h (24.3%) y disminuyendo a partir de las 16h (Cuadro 5). Este incremento siguió una tendencia lineal en las dos primeras fechas de corte (19/5 y 26/5), no manifestó ninguna tendencia significativa en la tercer fecha (30/5), siguió una tendencia de tipo cúbica en la cuarta fecha (17/6) y una tendencia cuadrática en la última fecha (24/6; Cuadro 3 y Figura 9). La magnitud del aumento diario en el %CNES osciló entre 0.3 y 7.5 unidades porcentuales (Figura 9).

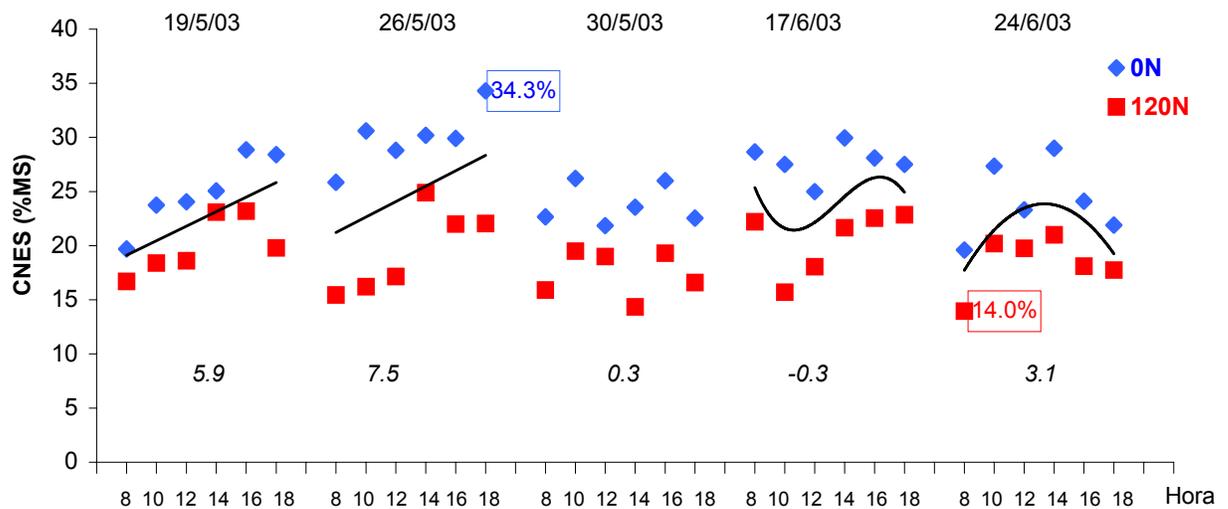


Figura 9. Interacción entre la fecha de corte y la hora del día sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles durante el ciclo inicial de crecimiento a dos niveles de fertilización (0 y 120 kgN/ha). En cursiva se indica la diferencia en cuanto al %CNES entre las 8h y las 18h (unidades porcentuales). En recuadros se indica el valor máximo y mínimo del ciclo.

El %CNES fue inferior en los tratamientos con 120 kgN/ha (19.2%, Cuadro 5) respecto de los tratamientos que no recibieron nitrógeno (26.1%). El %CNES se mantuvo sin cambios significativos a través de las fechas, oscilando entre 20.6% y 24.8% (Cuadro 5).

Cuadro 6. Contenido de proteína bruta (%) en la materia seca de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno (N) y horas del día durante el período inicial de acumulación de forraje.

FECHA	N (kg/ha)	HORA						Media ¹	EEM ²
		8	10	12	14	16	18		
19/5/03	0	23.0	22.8	22.5	20.3	20.0	16.2	23.8	0.99
	120	29.4	28.8	27.7	25.0	25.3	24.6		
26/5/03	0	16.8	15.8	14.4	15.1	15.4	14.2	20.9	0.99
	120	29.0	25.2	26.5	28.0	25.8	25.0		
30/5/03	0	19.3	18.4	18.3	17.6	17.4	17.3	22.1	0.99
	120	29.3	24.0	25.9	29.3	23.7	24.9		
17/6/03	0	14.7	14.7	17.0	14.7	14.3	15.4	19.6	0.99
	120	22.0	26.9	23.5	23.8	23.5	24.4		
24/6/03	0	17.8	16.4	16.8	16.1	18.1	17.7	20.0	0.99
	120	26.9	22.0	20.9	20.6	22.6	24.3		
Media ¹		22.8	21.5	21.4	21.0	20.6	20.4		
EEM ²		0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61		
Media ¹	0 N	120 N							
	17.3	25.3							
EEM ²	0.55	0.55							

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

El porcentaje de PB disminuyó desde 22.8% a las 8h hasta 20.4% a las 18h (2.4 unidades porcentuales, Cuadro 6), aunque la reducción fue de mayor magnitud entre las 8h y las 10h (1.3 unidades porcentuales). La disminución en el %PB durante el día fue dependiente de la fecha de corte (interacción Fecha*Hora significativa, Cuadro 3). En las tres primeras fechas de corte (19/5, 26/5 y 30/5) la disminución en el %PB durante el día fue lineal, mientras que el 17/6 no se presentaron cambios significativos (Cuadro 3 y Figura 10). El 24/6 la disminución se evidenció desde las 8h hasta las 12h y a partir de las 14h el %PB aumentó (Figura 10). La magnitud de los cambios en el %PB durante el día osciló entre 1.4 y 5.8 unidades porcentuales (Figura 10).

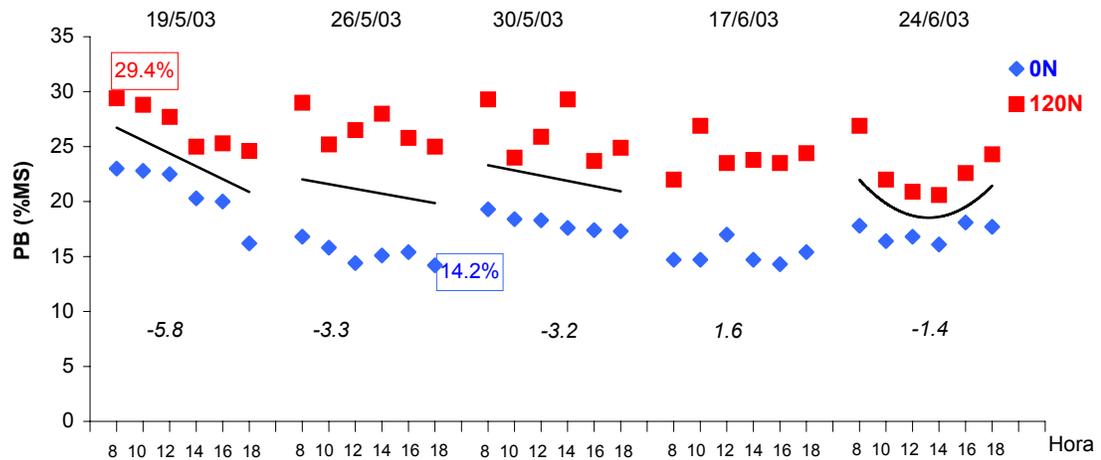


Figura 10. Interacción entre la fecha de corte y la hora del día sobre el porcentaje de proteína bruta durante el ciclo inicial de crecimiento a dos niveles de fertilización (0 y 120 kgN/ha). En cursiva se indica la diferencia en cuanto al %PB entre las 8h y las 18h (unidades porcentuales). En recuadros se indica el valor máximo y mínimo del ciclo.

La fertilización nitrogenada resultó en un aumento en el %PB de 8.0 unidades porcentuales (17.3% y 25.3% para los tratamientos 0N y 120N, respectivamente; Cuadro 6). El %PB se mantuvo sin variaciones significativas a través de las fechas y osciló entre 19.6% y 23.8% (Cuadro 6).

El %CNES presentó una correlación positiva con el %MS y una correlación negativa con el %PB (Figura 11). El %MS presentó una correlación negativa con el %PB ($r = -0.69$; $P < 0.01$). La relación CNES/PB promedio durante el ciclo inicial de crecimiento fue de 1.2/1.

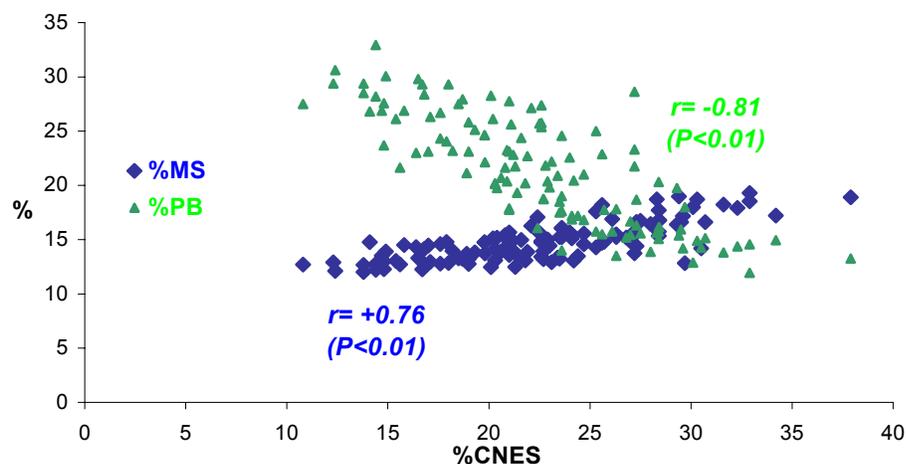


Figura 11. Coeficiente de correlación (r) entre el %CNES y el %MS y entre el %CNES y el %PB en el forraje de raigrás anual durante el ciclo inicial de crecimiento. Entre paréntesis se indica el valor P de cada correlación.

4.1.2. Primer rebrote – Principios de invierno.

La fecha tuvo un efecto significativo sobre el %MS, tendiendo a incrementarse hacia el final del ciclo (Cuadro 8), aunque dicho efecto fue dependiente del nivel de N aplicado (interacción Fecha*N significativa, Cuadro 7). El %MS en el forraje fertilizado se mantuvo constante durante las tres primeras fechas de corte (14.0%) y luego se incrementó (19.4%) hacia el final del ciclo (Figura 12). Cuando no se aplicó N, el %MS disminuyó durante las tres primeras fechas (2 unidades porcentuales entre la primer y segunda fecha) y aumentó en el final del ciclo (Figura 12).

La fertilización resultó en una disminución en el %MS del forraje (17.0% y 15.3% para 0N y 120N, respectivamente; Cuadro 8). Las diferencias en %MS se manifestaron sólo durante las tres primeras fechas de corte (interacción Fecha*N significativa, Cuadro 7), mientras que al final del ciclo el %MS fue el mismo (19.4%, Figura 12).

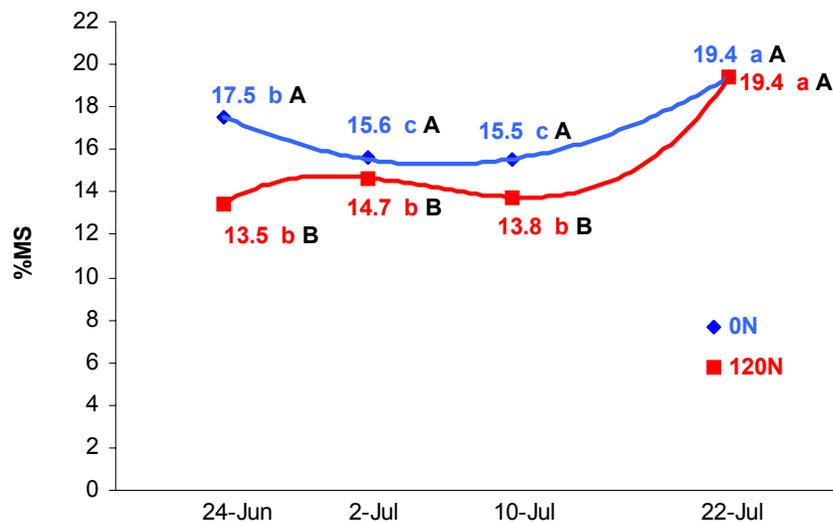


Figura 12. Interacción entre la fecha y el nivel de nitrógeno (N, kg/ha) sobre el porcentaje de materia seca en el forraje de raigrás anual durante el primer rebrote. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre fechas dentro del mismo nivel de N. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre niveles de N dentro de la misma fecha.

Cuadro 7. Efecto de la fecha de corte, nivel de nitrógeno (0 y 120 kgN/ha) y hora del día sobre el porcentaje de materia seca (MS), carbohidratos no estructurales solubles (CNES) y proteína bruta (PB) en raigrás anual durante el primer rebrote.

EFECTO	MS			CNES			PB				
	<i>P</i>			<i>P</i>			<i>P</i>				
Fecha	< 0.01			ns			0.02				
Nitrógeno	< 0.01			< 0.01			< 0.01				
Fecha*Nitrógeno	< 0.01			0.09			< 0.01				
Hora	< 0.01			< 0.01			< 0.01				
Fecha*Hora	< 0.01			ns			ns				
Nitrógeno*Hora	ns ¹			ns			ns				
Fecha*Nitrógeno*Hora	ns			ns			ns				
	Fecha*Hora			Hora			Hora				
	Lin ²	Cua ³	Cúb ⁴	Lin ²	Cua ³	Cúb ⁴	Lin ²	Cua ³	Cúb ⁴		
24/6/03	< 0.01	< 0.01	ns	< 0.01	ns	ns	< 0.01	0.06	0.06		
02/7/03	< 0.01	< 0.01	< 0.01								
10/7/03	< 0.01	< 0.01	< 0.01								
22/7/03	< 0.01	< 0.01	0.09								
	Nitrógeno*Fecha			Nitrógeno*Fecha			Nitrógeno*Fecha				
	Lin ²	Cua ³	Cúb ⁴	Lin ²	Cua ³	Cúb ⁴	Lin ²	Cua ³	Cúb ⁴		
0 N	0.02	< 0.01	ns	0 N	ns	0.05	ns	0 N	0.06	ns	ns
120 N	< 0.01	< 0.01	0.02	120 N	ns	ns	ns	120 N	< 0.01	0.03	ns

¹ ns *P* > 0.10

² contraste Lineal

³ contraste Cuadrático

⁴ contraste Cúbico

Cuadro 8. Contenido de materia seca (%) en el forraje de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno (N) y horas del día durante el primer rebrote.

FECHA	N (kg/ha)	HORA						Media ¹	EEM ²
		8	10	12	14	16	18		
24/6/03	0	15.9	17.4	17.5	17.9	19.1	17.5	15.5	0.37
	120	12.0	13.3	13.0	14.4	14.0	14.3		
02/7/03	0	12.6	13.3	15.0	16.8	18.0	17.9	15.1	0.37
	120	12.0	12.6	14.7	16.0	16.7	16.2		
10/7/03	0	17.8	18.2	15.2	13.1	14.0	14.7	14.6	0.37
	120	15.0	15.8	13.5	12.5	12.6	13.1		
22/7/03	0	16.9	18.3	19.4	20.7	21.0	20.5	19.4	0.37
	120	17.7	18.2	19.6	20.9	20.2	19.7		
Media ¹		15.0	15.9	16.0	16.5	16.9	16.7		
EEM ²		0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24		
Media ¹	0 N	120 N							
	17.0	15.3							
EEM ²	0.20	0.20							

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

El %MS se incrementó entre las 8h (15.0%) y las 16h (16.9%) y se mantuvo relativamente constante entre las 16h y las 18h (Cuadro 8). El efecto de la hora fue dependiente de la fecha de corte (interacción Fecha*Hora significativa, Cuadro 7).

En general, el %MS aumentó hasta las 14h-16h (Figura 13) y luego se mantuvo constante (24/6) o disminuyó levemente (2/7 y 22/7). El 10/7, el %MS disminuyó entre las 8h y las 16h, lo cual podría estar asociado a la ocurrencia de precipitaciones durante los horarios de muestreo (9mm).

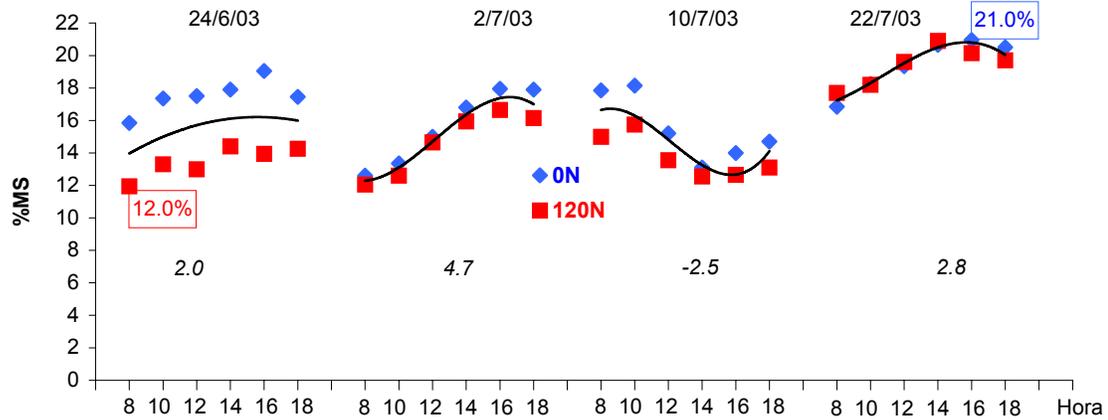


Figura 13. Interacción entre la fecha de corte y la hora del día sobre el porcentaje de materia seca durante el primer rebrote a dos niveles de fertilización (0 y 120 kgN/ha). En cursiva se indica la diferencia en cuanto al %MS entre las 8h y las 18h (unidades porcentuales). En recuadros se indica el valor máximo y mínimo del ciclo.

En el Cuadro 9 se presenta el %CNES en el forraje de raigrás durante el primer rebrote para cada uno de los tratamientos evaluados.

Cuadro 9. Contenido de carbohidratos no estructurales solubles (%) en la materia seca de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno (N) y horas del día durante el primer rebrote.

FECHA	N (kg/ha)	HORA						Media ¹	EEM ²
		8	10	12	14	16	18		
24/6/03	0	21.8	22.5	22.7	26.1	29.3	26.1	20.8	0.96
	120	13.0	16.7	13.3	21.8	16.7	19.8		
02/7/03	0	19.3	19.7	20.2	21.4	22.4	22.6	18.9	0.96
	120	15.3	15.5	18.7	18.5	18.3	15.6		
10/7/03	0	18.6	21.4	21.8	21.4	20.1	19.5	18.5	0.96
	120	17.3	16.9	16.2	16.4	16.1	17.3		
22/7/03	0	19.0	20.3	22.7	19.3	27.7	24.0	20.2	0.96
	120	17.5	17.6	17.5	19.2	18.0	19.3		
Media ¹		17.7	18.8	19.1	20.5	21.1	20.5		
EEM ²		0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70		
Media ¹	0 N	120 N							
	22.1	17.2							
EEM ²	0.53	0.53							

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

El %CNES no fue afectado por la fecha de corte, aunque esto fue dependiente del nivel de N aplicado (interacción Fecha*N significativa, Cuadro 7). Sin fertilización, el %CNES fue mayor al inicio del ciclo de crecimiento (24.7%), disminuyó durante las dos fechas de corte siguientes y luego aumentó hacia el final del ciclo (22.2%, Figura 14). En los tratamientos fertilizados, el %CNES se mantuvo invariable a través de las fechas de corte (17.2%, Cuadro 9 y Figura 14).

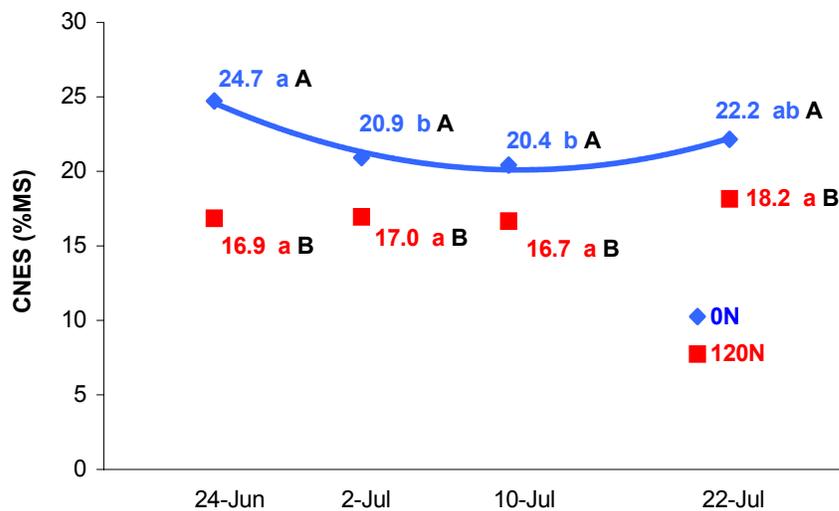


Figura 14. Interacción entre la fecha y el nivel de nitrógeno (N, kg/ha) sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual durante el primer rebrote. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre fechas dentro del mismo nivel de N. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre niveles de N dentro de la misma fecha.

El %CNES fue 22.1% y 17.2% en los tratamientos sin y con fertilización, respectivamente (Cuadro 9). La diferencia en %CNES entre niveles de fertilización fue mayor durante la primera fecha de corte (7.8 unidades porcentuales, Figura 14) respecto del resto (3.9 unidades; interacción Fecha*N significativa, Cuadro 7).

El %CNES aumentó de manera lineal (Cuadro 7) a través de las horas (17.7% a las 8h hasta 20.5% a las 18h, Cuadro 9).

En el Cuadro 10 se presenta el %PB en la MS de raigrás anual durante el primer rebrote, en cada uno de los tratamientos evaluados.

Cuadro 10. Contenido de proteína bruta (%) en la materia seca de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno (N) y horas del día durante el primer rebrote.

FECHA	N (kg/ha)	HORA						Media ¹	EEM ²
		8	10	12	14	16	18		
24/6/03	0	19.1	17.9	18.2	17.3	15.2	16.5	22.2	0.80
	120	31.0	28.8	27.7	24.5	24.2	25.5		
02/7/03	0	15.8	16.8	17.8	15.7	15.7	15.5	17.6	0.80
	120	20.6	21.0	18.0	18.2	16.6	19.8		
10/7/03	0	15.7	15.2	12.8	13.6	13.0	13.0	15.8	0.80
	120	20.3	22.3	17.6	15.4	16.3	14.2		
22/7/03	0	16.8	12.7	15.7	13.8	12.8	14.6	14.6	0.80
	120	15.1	15.3	14.6	13.5	13.3	16.8		
Media ¹		19.3	18.8	17.8	16.5	15.9	17.0		
EEM ²		0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63		
Media ¹	0 N	120 N							
	15.5	19.6							
EEM ²	0.45	0.45							

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

El contenido de PB en el forraje disminuyó durante el ciclo de crecimiento desde 22.2% hasta 14.6%, siendo la disminución de mayor magnitud entre la primer y segunda fecha (4.6 unidades porcentuales, Cuadro 10). Dicha reducción fue dependiente del nivel de N aplicado (interacción Fecha*N significativa, Cuadro 7). La reducción en el %PB a través de las fechas siguió una tendencia lineal (Cuadro 7) cuando no se fertilizó, presentando una diferencia de 3.0 unidades porcentuales entre el principio y el final de ciclo (Figura 15). En los tratamientos fertilizados la reducción en el %PB fue de 12.1 unidades (Figura 15) y siguió una tendencia de tipo cuadrática (Cuadro 7).

El contenido de PB fue 15.5% y 19.6% en los tratamientos sin y con fertilización, respectivamente (Cuadro 10). Las diferencias en %PB entre niveles de fertilización fueron

disminuyendo con el avance del ciclo (interacción Fecha*N significativa, Cuadro 7). La diferencia fue de 9.6 unidades porcentuales al inicio y no fue significativa hacia el final del ciclo (Figura 15).

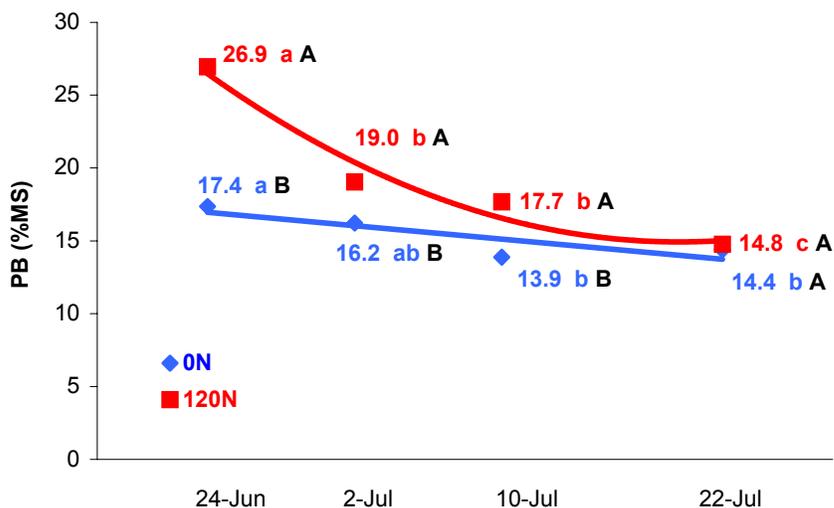


Figura 15. Interacción entre la fecha y el nivel de nitrógeno (N, kg/ha) sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual durante el primer rebrote. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre fechas dentro del mismo nivel de N. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre niveles de N dentro de la misma fecha.

La variación en el %PB durante el día siguió una tendencia cúbica (Figura 16), disminuyendo entre las 8h y las 16h y aumentando entre las 16h y las 18h (Cuadro 10).

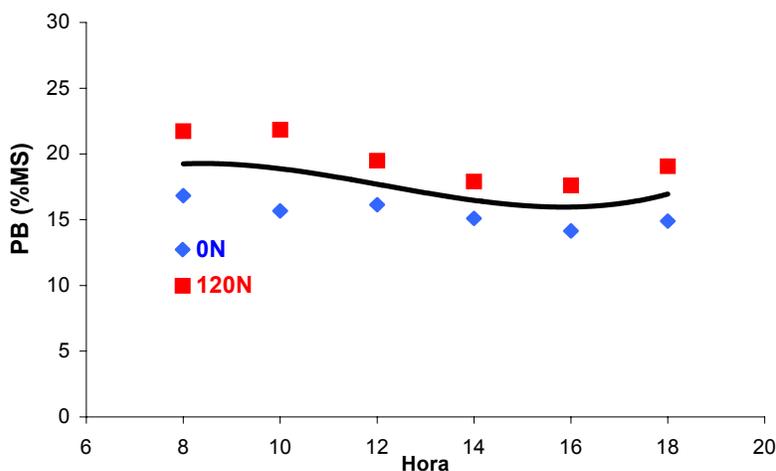


Figura 16. Efecto de la hora del día sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual durante el primer rebrote a dos niveles de fertilización nitrogenada (0 y 120 kgN/ha).

El %CNES presentó una correlación positiva con el %MS y una correlación negativa con el %PB (Figura 17). El %MS y el %PB presentaron una coeficiente de correlación negativo ($r = -0.51$, $P < 0.01$). La relación CNES/PB promedio durante el primer rebrote fue de 1.2/1.

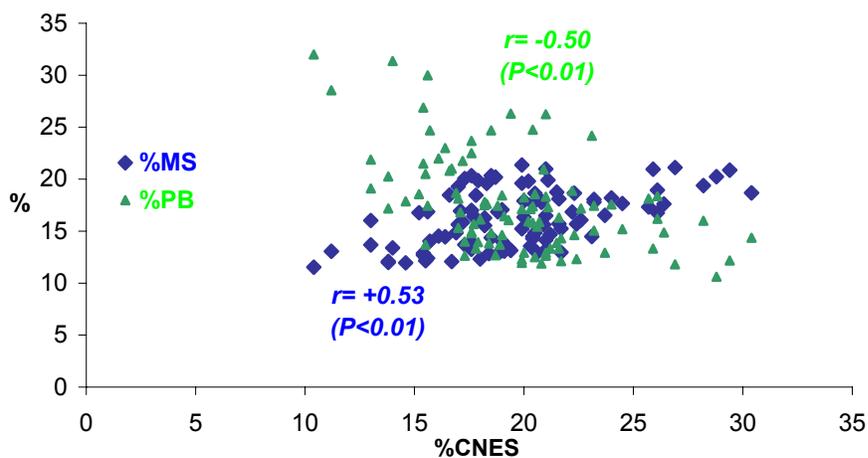


Figura 17. Coeficiente de correlación (r) entre el %CNES y el %MS y entre el %CNES y el %PB en el forraje de raigrás anual durante el primer rebrote. Entre paréntesis se indica el valor P de cada correlación.

4.1.3. Segundo rebrote – Invierno.

En el Cuadro 11 se presentan los resultados de la fecha de corte, nivel de fertilización nitrogenada y hora del día sobre la composición química del forraje durante el segundo rebrote. En el Cuadro 12 se presenta el %MS promedio para cada uno de los tratamientos evaluados.

Cuadro 11. Efecto de la fecha de corte, nivel de nitrógeno (0 y 120 kgN/ha) y hora del día sobre el porcentaje de materia seca (MS), carbohidratos no estructurales solubles (CNES) y proteína bruta (PB) en raigrás anual durante el segundo rebrote.

EFEECTO	MS			CNES			PB		
	<i>P</i>			<i>P</i>			<i>P</i>		
Fecha	< 0.01			0.02			< 0.01		
Nitrógeno	< 0.01			ns			< 0.01		
Fecha*Nitrógeno	0.04			0.08			< 0.01		
Hora	< 0.01			< 0.01			0.02		
Fecha*Hora	< 0.01			< 0.01			ns		
Nitrógeno*Hora	ns ¹			ns			ns		
Fecha*Nitrógeno*Hora	0.07			ns			ns		
	Fecha*Hora			Fecha*Hora			Hora		
	Lin ²	Cua ³	Cúb ⁴	Lin ²	Cua ³	Cúb ⁴	Lin ²	Cua ³	Cúb ⁴
14/8/03	< 0.01	< 0.01	ns	< 0.01	ns	ns	< 0.01	0.02	ns
21/8/03	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	ns	ns			
04/9/03	< 0.01	< 0.01	ns	ns	ns	ns			
11/9/03	ns	ns	ns	ns	0.01	ns			
	Nitrógeno*Fecha			Nitrógeno*Fecha			Nitrógeno*Fecha		
	Lin ²	Cua ³	Cúb ⁴	Lin ²	Cua ³	Cúb ⁴	Lin ²	Cua ³	Cúb ⁴
0 N	< 0.01	ns	< 0.01	ns	< 0.01	ns	< 0.01	0.01	0.05
120 N	< 0.01	0.02	0.01	< 0.01	< 0.01	ns	< 0.01	< 0.01	< 0.01

¹ ns *P* > 0.10

² contraste Lineal

³ contraste Cuadrático

⁴ contraste Cúbico

Cuadro 12. Contenido de materia seca (%) en el forraje de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno (N) y horas del día durante el segundo rebrote.

FECHA	N (kg/ha)	HORA						Media ¹	EEM ²
		8	10	12	14	16	18		
14/8/03	0	12.3	16.6	20.6	20.5	20.4	20.1	16.5	0.49
	120	12.5	13.5	15.0	15.0	15.6	15.7		
21/8/03	0	19.5	23.5	23.8	22.6	24.4	24.5	22.2	0.49
	120	18.3	20.9	21.9	21.9	22.3	23.0		
04/9/03	0	21.0	22.4	23.1	23.5	23.6	23.2	22.8	0.49
	120	21.0	21.7	23.1	24.2	23.8	23.0		
11/9/03	0	26.6	26.6	27.9	26.4	26.7	26.6	26.1	0.49
	120	25.0	26.2	25.4	25.5	25.4	24.5		
Media ¹		19.5	21.4	22.6	22.4	22.8	22.6		
EEM ²		0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32		
Media ¹	0 N	120 N							
	22.7	21.0							
EEM ²	0.29	0.29							

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

El %MS se incrementó con el avance del ciclo de crecimiento desde 16.5% hasta 26.1% (Cuadro 12). El incremento en el %MS a través de las fechas siguió la misma tendencia con ambos niveles de N (Figura 18), aunque dicho aumento fue mayor para el tratamiento fertilizado (10.8 unidades porcentuales) respecto del no fertilizado (8.4 unidades porcentuales; interacción Fecha*N significativa, Cuadro 11).

La fertilización nitrogenada redujo el %MS de 22.7% a 21.0% para 0N y 120N, respectivamente (Cuadro 12), aunque esta reducción fue dependiente de la fecha de corte ya que fue disminuyendo a medida que avanzó el ciclo de crecimiento (Figura 18).

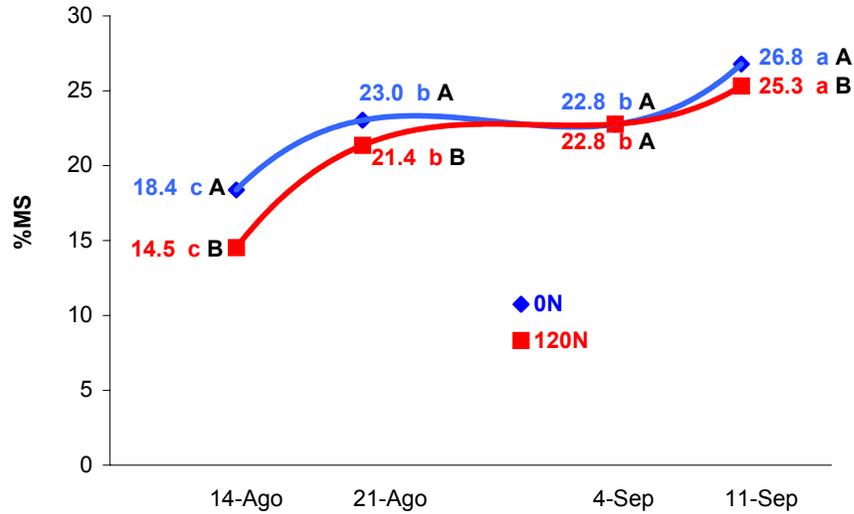


Figura 18. Interacción entre la fecha y el nivel de nitrógeno (N, kg/ha) sobre el porcentaje de materia seca en el forraje de raigrás anual durante el segundo rebrote. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre fechas dentro del mismo nivel de N. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre niveles de N dentro de la misma fecha.

El %MS se incrementó a medida que transcurrieron las horas del día desde 19.5% a las 8h hasta 22.6% a las 12h y luego se mantuvo constante hasta las 18h (Cuadro 12). El efecto de la hora del día sobre el %MS fue dependiente de la fecha de corte (interacción Fecha*Hora significativa, Cuadro 11). La magnitud de la variación en el %MS durante el día fue disminuyendo a medida que transcurrió el ciclo de crecimiento, desde 5.5 unidades porcentuales el 14/8 hasta prácticamente cero unidades el 11/9 (Figura 19).

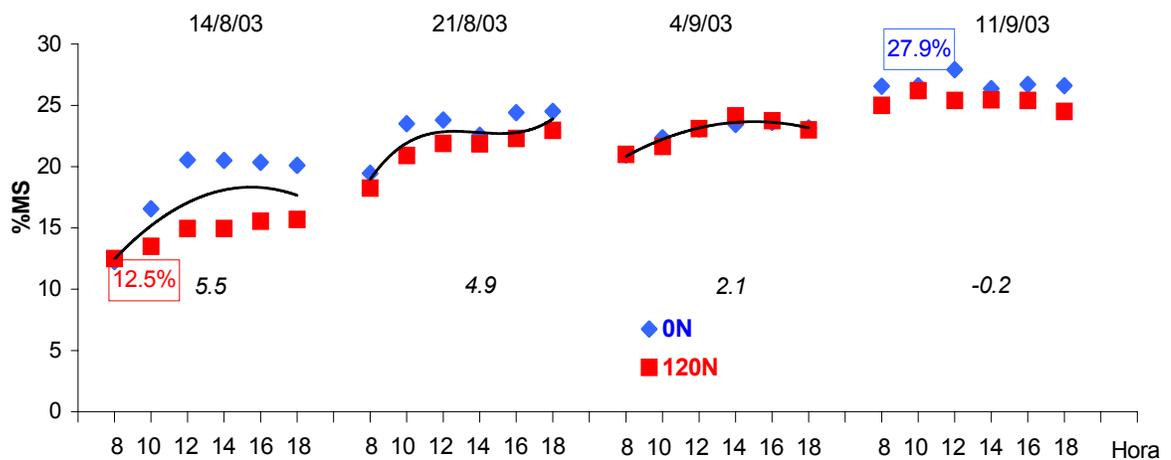


Figura 19. Interacción entre la fecha de corte y la hora del día sobre el porcentaje de materia seca durante el segundo rebrote a dos niveles de fertilización (0 y 120 kgN/ha). En cursiva se indica la diferencia en cuanto al %MS entre las 8h y las 18h (unidades porcentuales). En recuadros se indica el valor máximo y mínimo del ciclo.

En el Cuadro 13 se presenta el %CNES en la materia seca de raigrás anual durante el segundo rebrote para cada uno de los tratamientos evaluados.

Cuadro 13. Contenido de carbohidratos no estructurales solubles (%) en la materia seca de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno (N) y horas del día durante el segundo rebrote.

FECHA	N (kg/ha)	HORA						Media ¹	EEM ²
		8	10	12	14	16	18		
14/8/03	0	15.9	15.5	17.8	20.3	22.8	19.5	16.8	1.15
	120	10.9	13.5	13.3	17.5	16.7	17.8		
21/8/03	0	21.4	23.0	24.2	25.9	25.3	26.1	23.5	1.15
	120	17.2	18.3	22.0	23.9	23.2	31.7		
04/9/03	0	26.5	26.2	27.9	28.2	27.3	28.5	28.1	1.15
	120	32.3	27.2	29.0	29.0	30.2	25.6		
11/9/03	0	22.4	21.9	21.2	18.6	21.6	21.8	21.5	1.15
	120	24.3	19.1	23.3	17.6	21.4	24.5		
Media ¹		21.3	20.6	22.3	22.6	23.5	24.4		
EEM ²		0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81		
Media ¹	0 N	120 N							
	22.9	22.0							
EEM ²	0.63	0.63							

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

El %CNES aumentó a través de las tres primeras fechas de corte (16.8% el 14/8 a 28.1% el 4/9, Cuadro 13) y luego disminuyó hacia el final del ciclo (21.5%). Esta tendencia se evidenció en ambos niveles de N (Figura 20). La interacción significativa entre la fecha de corte y el nivel de N aplicado (Cuadro 11) se debió a un mayor incremento en el %CNES entre la primer y tercer fecha de corte en los tratamientos fertilizados (14.0 unidades porcentuales) respecto de los no fertilizados (8.8 unidades porcentuales, Figura 20).

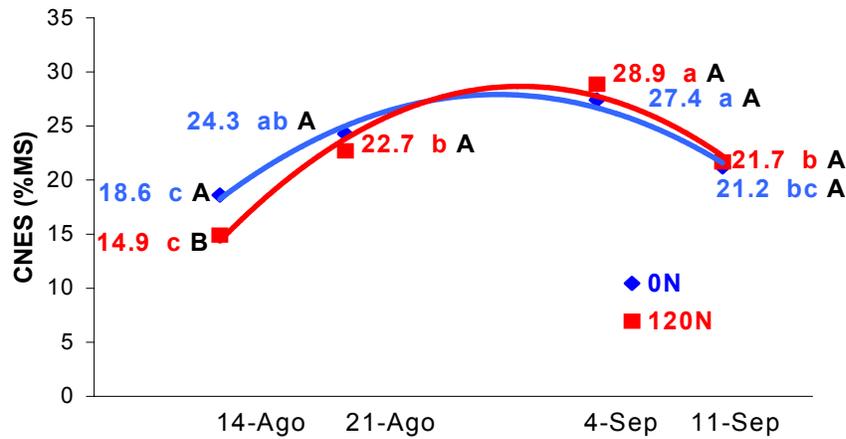


Figura 20. Interacción entre la fecha y el nivel de nitrógeno (N, kg/ha) sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual durante el segundo rebrote. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre fechas dentro del mismo nivel de N. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre niveles de N dentro de la misma fecha.

La fertilización nitrogenada no afectó ($P > 0.10$, Cuadro 11) el %CNES del forraje (22.9% y 22.0% para 0N y 120N, respectivamente; Cuadro 13). Esta falta de efecto fue dependiente de la fecha de corte ya que al inicio del ciclo de crecimiento (14/8) los tratamientos sin fertilización presentaron un %CNES mayor (18.6%) respecto de los fertilizados (14.9%, Figura 20).

El %CNES se incrementó durante el día (21.3% a las 8h hasta 24.4% a las 18h, Cuadro 13). La interacción Fecha*Hora fue significativa (Cuadro 11) ya que durante las dos primeras fechas de corte, el incremento en el %CNES durante el día siguió una tendencia lineal (Cuadro 11 y Figura 21), el 4/9 no se observaron variaciones significativas a lo largo del día y el 11/9 se detectó una tendencia cuadrática, aunque errática.

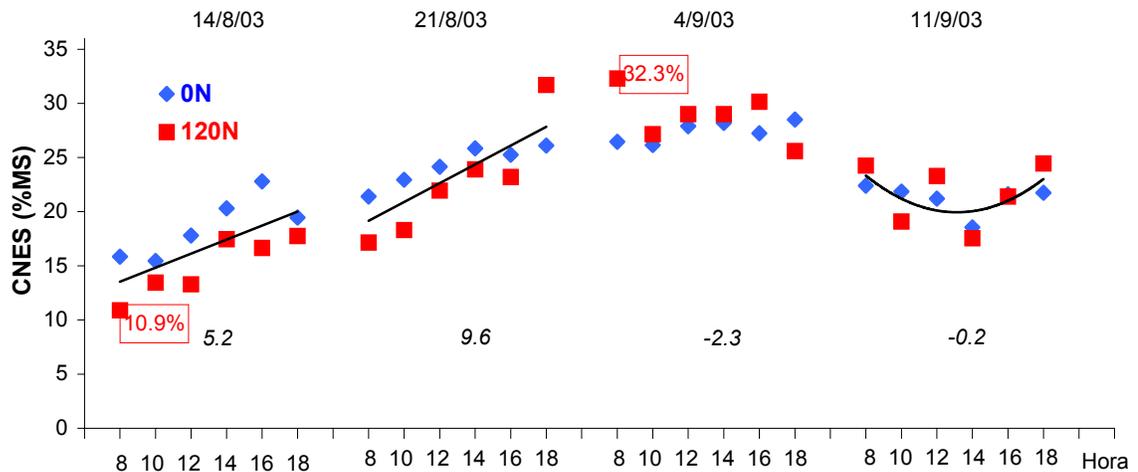


Figura 21. Interacción entre la fecha de corte y la hora del día sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles durante el segundo rebrote a dos niveles de fertilización (0 y 120 kgN/ha). En cursiva se indica la diferencia en cuanto al %CNES entre las 8h y las 18h (unidades porcentuales). En recuadros se indica el valor máximo y mínimo del ciclo.

El %PB disminuyó desde 17.5% el 14/8 hasta 10.2% el 11/9 (Cuadro 14). Esta reducción de 7.3 unidades porcentuales se produjo principalmente al inicio del ciclo. La interacción significativa entre la fecha de corte y el nivel de N (Cuadro 11) se debió a una mayor reducción en los tratamientos fertilizados (9.4 unidades porcentuales) respecto de los no fertilizados (5.3 unidades porcentuales, Figura 22).

Cuadro 14. Contenido de proteína bruta (%) en la materia seca de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno (N) y horas del día durante el segundo rebrote.

FECHA	N (kg/ha)	HORA						Media ¹	EEM ²
		8	10	12	14	16	18		
14/8/03	0	17.2	15.3	15.0	13.0	14.4	15.4	17.5	0.35
	120	21.7	19.4	20.5	20.2	19.1	18.9		
21/8/03	0	12.1	10.0	10.4	11.0	11.3	10.8	11.6	0.35
	120	13.8	12.9	12.1	11.6	11.1	11.5		
04/9/03	0	10.3	10.0	10.1	10.2	10.2	10.8	10.6	0.35
	120	10.7	11.7	10.8	10.3	10.4	11.3		
11/9/03	0	10.3	9.5	9.3	9.7	9.2	10.3	10.2	0.35
	120	9.8	10.6	11.3	11.1	11.1	9.9		
Media ¹		13.2	12.4	12.4	12.1	12.1	12.3		
EEM ²		0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27		
Media ¹	0 N	120 N							
	11.5	13.4							
EEM ²	0.21	0.21							

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

La fertilización nitrogenada aumentó el %PB en el forraje (11.5% y 13.4% para los tratamientos 0N y 120N, respectivamente; Cuadro 14), aunque dicho aumento fue dependiente de la fecha de corte. La diferencia en el %PB entre niveles de N disminuyó a medida que avanzó el ciclo de crecimiento (Figura 22).

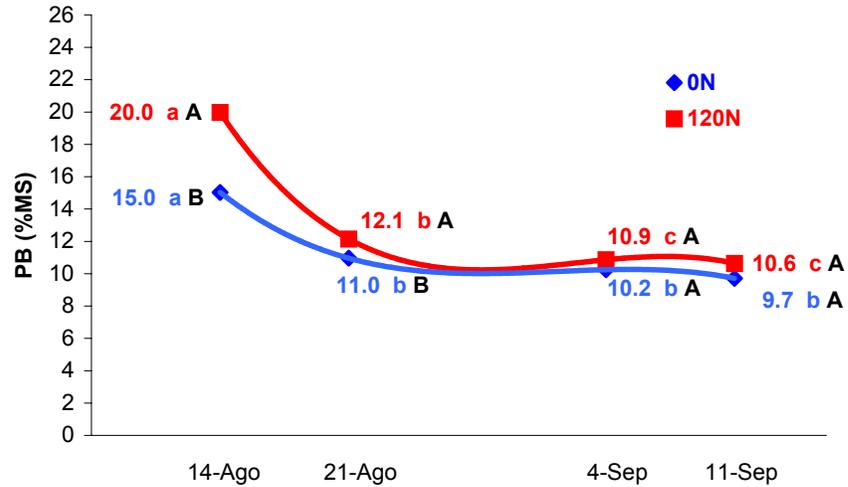


Figura 22. Interacción entre la fecha y el nivel de nitrógeno (N, kg/ha) sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual durante el segundo rebrote. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre fechas dentro del mismo nivel de N. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre niveles de N dentro de la misma fecha.

El %PB se redujo durante el día, siguiendo una tendencia cuadrática (Cuadro 11) desde 13.2% a las 8h hasta 12.1% a las 14h y luego se mantuvo relativamente constante hasta las 18h (Cuadro 14).

El %CNES presentó una correlación positiva con el %MS y una correlación negativa con el %PB (Figura 23). El %MS presentó una correlación negativa con el %PB ($r = -0.88$, $P < 0.01$). La relación CNES/PB promedio durante el segundo rebrote fue de 2.0/1.

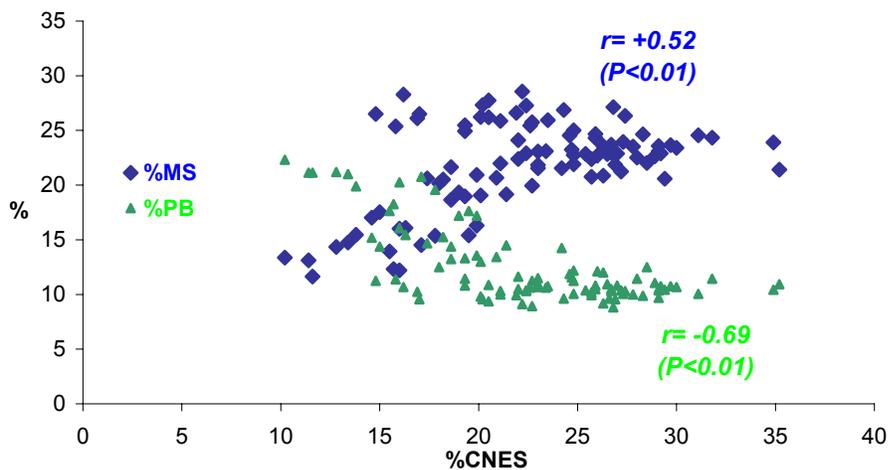


Figura 23. Coeficiente de correlación (r) entre el %CNES y el %MS y entre el %CNES y el %PB en el forraje de raigrás anual durante el segundo rebrote. Entre paréntesis se indica el valor P de cada correlación.

En el Cuadro 15 se presenta la tendencia que manifestó el contenido de MS, CNES y PB durante el día en cada uno de los ciclos de crecimiento evaluados.

Cuadro 15. Efecto de la hora del día sobre el porcentaje de materia seca (MS), carbohidratos no estructurales solubles (CNES) y proteína bruta (PB) en raigrás anual durante el ciclo inicial de crecimiento, primer y segundo rebrotos.

CICLO	Efecto de HORA								
	Lin ¹	%MS		%CNES			%PB		
		Cua ²	Cúb ³	Lin	Cua	Cúb	Lin	Cua	Cúb
INICIAL	< 0.01	< 0.01	ns ⁴	< 0.01	0.02	ns	< 0.01	ns	ns
1er. REBROTE	< 0.01	< 0.01	ns	< 0.01	ns	ns	< 0.01	0.06	0.06
2do. REBROTE	< 0.01	< 0.01	0.04	< 0.01	ns	ns	< 0.01	0.02	ns

¹ contraste lineal ² contraste cuadrático ³ contraste cúbico ⁴ $P > 0.10$

El %MS presentó una variación cuadrática durante el ciclo de crecimiento inicial y primer rebrote y una variación de tipo cúbica durante el segundo rebrote (Cuadro 15). En el segundo rebrote, el %MS en cada horario estimado mediante la ecuación cúbica fue muy similar al estimado mediante la ecuación cuadrática (Figura 24). Por ello, se puede considerar que en el segundo rebrote, el %MS a lo largo del día siguió una tendencia cuadrática (Cuadro 15), igual que en el ciclo inicial y el primer rebrote. Como se observa en la Figura 24, las curvas correspondientes al ciclo inicial, primer rebrote y segundo rebrote resultaron paralelas ($P > 0.10$), pero difirieron en cuanto a la ordenada al origen ($P < 0.01$). Esto indica que la magnitud del cambio diario en el %MS no fue diferente entre ciclos (2.3 unidades porcentuales), aunque el %MS aumentó a medida que transcurrieron los diferentes ciclos (Figura 24).

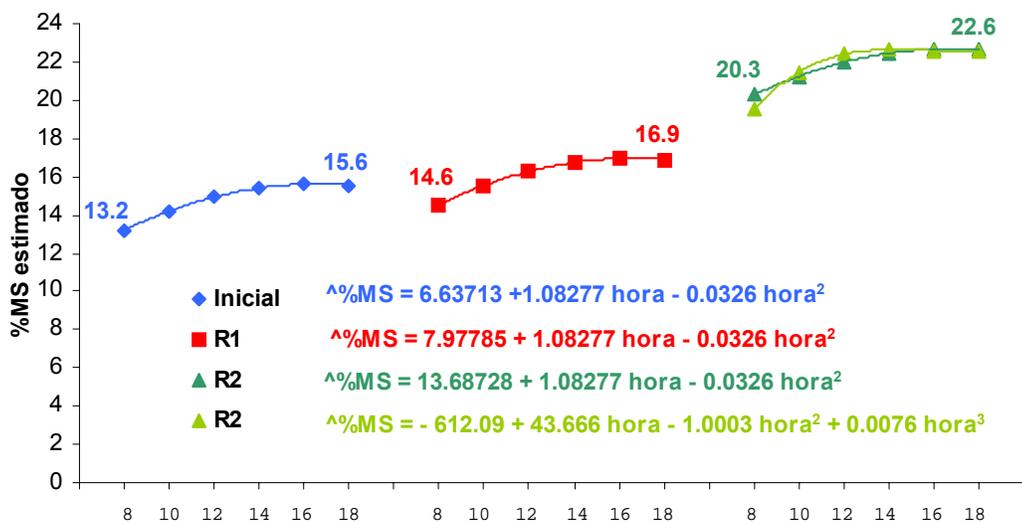


Figura 24. Variación en el porcentaje de materia seca durante el día en el ciclo inicial, primer (R1) y segundo rebrotes (R2). Los valores representan el porcentaje de materia seca estimado ($\hat{\%MS}$) para cada ciclo que surge del contraste que resultó significativo en cada caso y del análisis de paralelismo y coincidencia entre ecuaciones.

El %CNES presentó una variación de tipo cuadrática durante el día en el ciclo de crecimiento inicial y un aumento lineal en el primer y segundo rebrote (Cuadro 15). En el ciclo inicial, el aumento en el %CNES entre las 8h y las 18h fue de 3.4 unidades porcentuales (Figura 25).

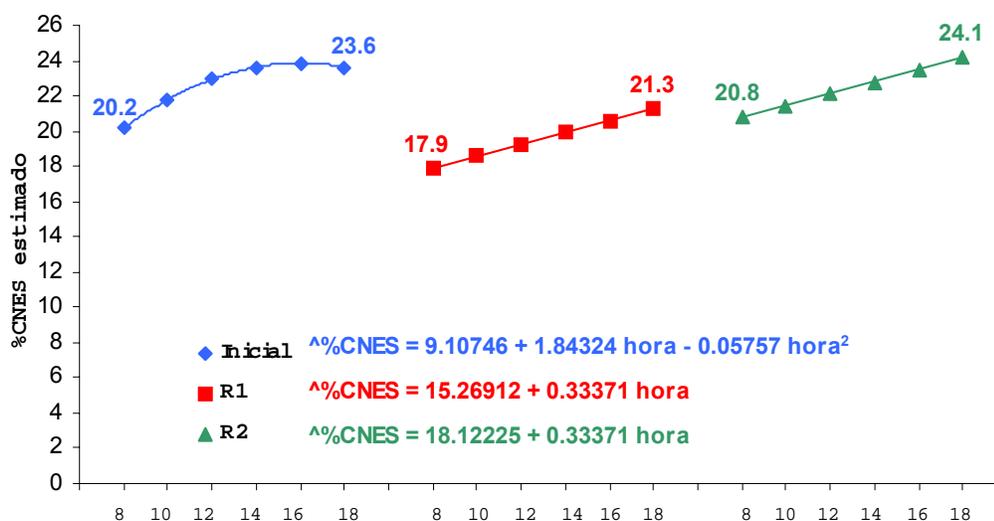


Figura 25. Variación en el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles durante el día en el ciclo inicial, primer (R1) y segundo rebrotes (R2). Los valores representan el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles estimado ($\hat{\%CNES}$) para cada ciclo que surge del contraste que resultó significativo en cada caso y del análisis de paralelismo y coincidencia entre ecuaciones.

Las ecuaciones correspondientes al primer y segundo rebrotes resultaron paralelas ($P > 0.10$, Figura 25), pero difirieron en cuanto a la ordenada al origen ($P < 0.01$). Esto indica que a medida que transcurrieron las horas del día el %CNES se incrementó con la misma magnitud en ambos ciclos (3.3 unidades porcentuales), si bien el %CNES fue mayor en el segundo rebrote respecto del primero (Figura 25).

La disminución en el %PB durante el día siguió una tendencia lineal en el ciclo inicial, cúbica en el primer rebrote y cuadrática en el segundo rebrote (Cuadro 15). La diferencia estimada en el %PB entre las 8h y las 18h fue 2.2 unidades porcentuales para el ciclo inicial y primer rebrote y 0.9 unidades en el segundo rebrote (Figura 26).

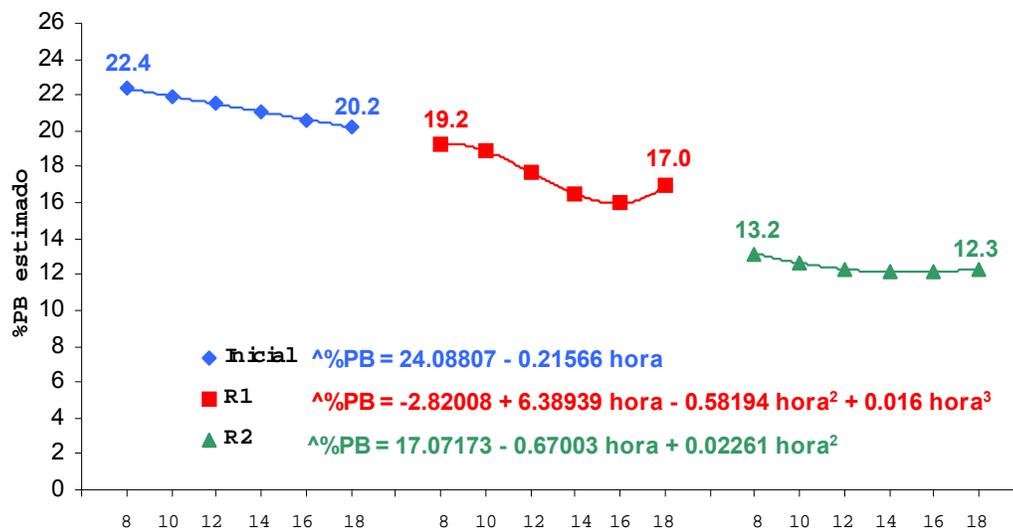


Figura 26. Variación en el porcentaje de proteína bruta durante el día en el ciclo inicial, primer (R1) y segundo rebrotes (R2). Los valores representan el porcentaje de proteína bruta estimado ($\hat{\%PB}$) para cada ciclo que surge del contraste que resultó significativo en cada caso y del análisis de paralelismo y coincidencia entre ecuaciones.

4.2. **Análisis II: Evaluación del efecto *ciclo de crecimiento, fecha de corte y nivel de nitrógeno*.**

En el Cuadro 16 se presentan los resultados en cuanto al efecto de la fecha de corte, nivel de fertilización nitrogenada y ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de materia seca, carbohidratos no estructurales solubles y proteína bruta.

Cuadro 16. Efecto de la fecha de corte (1, 2, 3 y 4), nivel de nitrógeno (0 y 120 kgN/ha) y ciclo de crecimiento (inicial, primer y segundo rebrotes) sobre el porcentaje de materia seca (MS), carbohidratos no estructurales solubles (CNES) y proteína bruta (PB) de raigrás anual.

EFEECTO	MS	CNES	PB
	<i>P</i>	<i>P</i>	<i>P</i>
Fecha	< 0.01	ns	0.01
Nitrógeno	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Fecha*Nitrógeno	0.05	ns	0.04
Ciclo	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Fecha*Ciclo	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Nitrógeno*Ciclo	ns ¹	< 0.01	< 0.01
Fecha*Nitrógeno*Ciclo	< 0.01	ns	< 0.01

¹ ns *P* > 0.10

Tanto la fecha, como el nivel de N aplicado como el ciclo de crecimiento afectaron el %MS del forraje (Cuadro 16). El %MS se incrementó desde 15.5% en la primer fecha hasta 20.3% en la cuarta fecha (Cuadro 17). Este incremento se manifestó al inicio y al final del ciclo, ya que a mediados del mismo, el %MS se mantuvo relativamente constante. Esta tendencia se evidenció con ambos niveles de N (Figura 27), aunque el incremento fue mayor en el caso de los tratamientos fertilizados (5.7 unidades porcentuales, Figura 27) respecto de los no fertilizados (4.0 unidades; interacción Fecha*N significativa, Cuadro 16).

Cuadro 17. Contenido de materia seca (%) en el forraje de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno (N) y ciclos de crecimiento.

CICLO	N (kg/ha)	FECHA				Media ¹	EEM ²	
		1	2	3	4			
INICIAL	0	15.2	16.7	14.4	16.9	14.8	0.21	
	120	13.8	14.3	13.4	14.1			
1er. REBROTE	0	17.5	15.6	15.5	19.4	16.2	0.21	
	120	13.5	14.9	13.8	19.4			
2do. REBROTE	0	18.4	23.0	22.8	26.8	21.9	0.21	
	120	14.5	21.4	22.8	25.3			
Media ¹		15.5	17.6	17.1	20.3			
EEM ²		0.34	0.34	0.34	0.34			
Media ¹	0 N	120 N						
	18.5	16.7						
EEM ²	0.19	0.19						

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

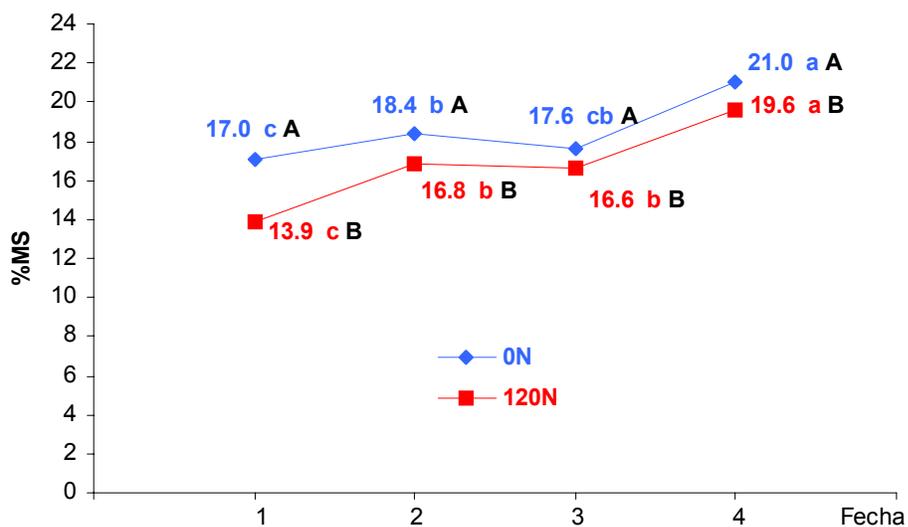


Figura 27. Interacción entre la fecha de corte (1 a 4) y el nivel de nitrógeno (N, kg/ha) sobre el porcentaje de materia seca en el forraje de raigrás anual. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre fechas dentro del mismo nivel de N. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre niveles de N dentro de la misma fecha.

La interacción Fecha*Ciclo fue significativa (Cuadro 16) debido principalmente a que durante el ciclo inicial la fecha de corte no tuvo efecto sobre el %MS (Cuadro 3) pero sí tuvo efecto en el primer y segundo rebrotes (Cuadros 7 y 11). Así, durante el ciclo inicial, el %MS se mantuvo sin cambios significativos a través de las fechas, oscilando entre 13.9% y 15.5% (Figura 28), mientras que durante el primer y segundo rebrotes el %MS aumentó 3.9 y 9.6 unidades porcentuales, respectivamente.

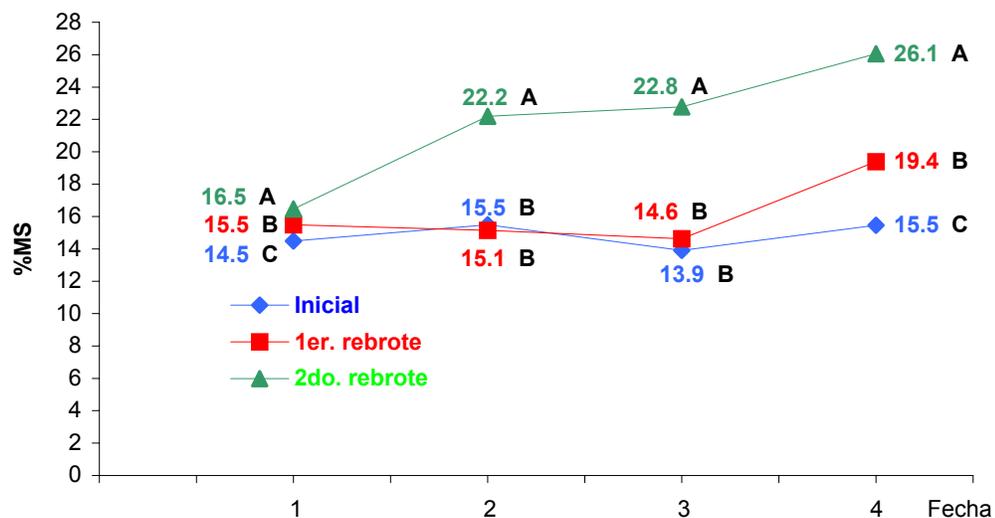


Figura 28. Interacción entre la fecha de corte (1 a 4) y el ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de materia seca en el forraje de raigrás anual. Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre ciclos dentro de la misma fecha.

La interacción entre la fecha de corte y el nivel de N fue dependiente del ciclo de crecimiento (interacción Fecha*N*Ciclo significativa, Cuadro 16), debido a que durante el ciclo inicial, dicha interacción no fue significativa (Cuadro 3), mientras que en los dos rebrotes siguientes la interacción entre ambos factores fue significativa (Cuadros 7 y 11). El efecto de la interacción triple sobre el %MS puede observarse en la Figura 29. Durante el ciclo de crecimiento inicial el %MS se mantuvo invariable a través de las fechas y esta falta de efecto fue independiente del nivel de N aplicado (Figura 29). Durante el primer rebrote el %MS se mantuvo constante o disminuyó durante las tres primeras fechas para el caso de los tratamientos con y sin fertilización, respectivamente y luego se incrementó hacia el final del ciclo (Figura 29). Durante el segundo rebrote, el %MS se incrementó al

inicio y al final del ciclo con ambos niveles de N, aunque dicho incremento fue mayor en el caso de los tratamientos fertilizados (10.8 unidades porcentuales, Figura 29) respecto de los no fertilizados (8.4 unidades porcentuales).

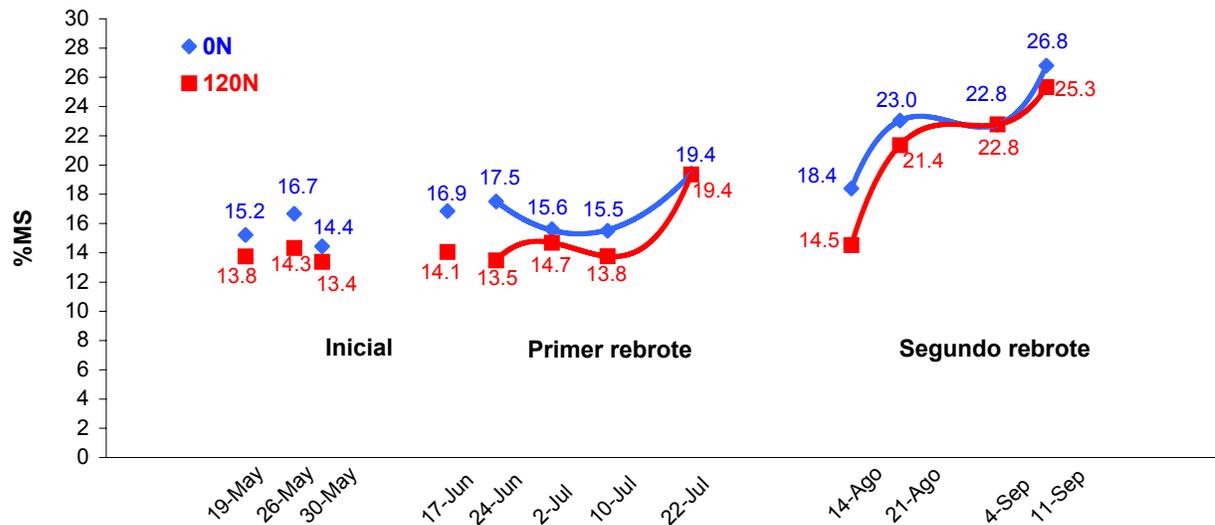


Figura 29. Interacción entre la fecha de corte, nivel de nitrógeno (N, kg/ha) y ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de materia seca en el forraje de raigrás anual.

El %MS fue mayor (18.5%) en los tratamientos no fertilizados respecto de fertilizados (16.7%, Cuadro 17). El efecto de la fertilización fue independiente del ciclo (interacción N*Ciclo no significativa, Cuadro 16), lo cual indica que la diferencia observada entre niveles de fertilización fue la misma en los tres ciclos de crecimiento. La diferencia en %MS entre los dos niveles de N fue significativa en las cuatro fechas evaluadas, pero la misma fue disminuyendo a través de las fechas de corte (interacción Fecha*N significativa, Cuadro 16 y Figura 27). Esta interacción se presentó durante el primer y segundo rebrotos mientras que durante el ciclo de crecimiento inicial, la diferencia entre niveles de N fue independiente de la fecha de corte (interacción Fecha*N*Ciclo significativa, Cuadro 16 y Figura 29).

El %MS aumentó desde 14.8% en el ciclo de crecimiento inicial (otoño) hasta 21.9% en el segundo rebrote (invierno, Cuadro 17). Este efecto fue independiente del nivel de N

aplicado (interacción N*Ciclo no significativa, Cuadro 16). El aumento en el %MS a medida que transcurrieron los ciclos de crecimiento fue dependiente de la fecha de corte (interacción Fecha*Ciclo significativa, Cuadro 16). El %MS durante el segundo rebrote fue superior respecto del primer rebrote y del ciclo inicial, principalmente a medida que transcurrieron las fechas de corte (Figura 28). Durante las tres primeras fechas de corte, el %MS en el ciclo inicial de crecimiento se mantuvo invariable y similar al del primer rebrote (14.9%, Figura 28). En la cuarta fecha, el %MS en el primer rebrote fue mayor (19.4%) respecto del ciclo inicial (15.5 %, Figura 28).

En el Cuadro 18 se presenta el %CNES en el forraje de raigrás anual durante el ciclo inicial de crecimiento, primer y segundo rebrotes, con los dos niveles de fertilización evaluados y a través de las cuatro fechas de corte.

Cuadro 18. Contenido de carbohidratos no estructurales solubles (%) en la materia seca de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno (N) y ciclos de crecimiento.

CICLO	N (kg/ha)	FECHA				Media ¹	EEM ²	
		1	2	3	4			
INICIAL	0	25.0	29.9	23.8	27.8	23.0	0.62	
	120	20.0	19.6	17.4	20.5			
1er. REBROTE	0	24.7	20.9	20.4	22.2	19.6	0.62	
	120	16.9	17.0	16.7	18.2			
2do. REBROTE	0	18.6	24.3	27.4	21.2	22.5	0.62	
	120	14.9	22.7	28.9	21.7			
Media ¹		20.0	22.4	22.4	21.9			
EEM ²		0.82	0.82	0.82	0.82			
Media ¹	0 N	120 N						
	23.9	19.5						
EEM ²	0.58	0.58						

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

El %CNES no fue afectado por la fecha de corte (Cuadro 16), oscilando entre 20.0% y 22.4% (Cuadro 18), aunque esto fue dependiente del ciclo de crecimiento (interacción Fecha*Ciclo significativa, Cuadro 16). Durante el ciclo inicial y primer rebrote, la fecha no tuvo efectos significativos sobre el %CNES (Cuadros 3 y 7), el cual osciló entre 20.6% y

24.8% en el ciclo inicial y entre 18.5% y 20.8% en el primer rebrote (Figura 30). Durante el segundo rebrote el %CNES fue afectado por la fecha de corte (Cuadro 11), el cual aumentó a través de las tres primeras fechas desde 16.8% hasta 28.1% y luego disminuyó hacia el final del ciclo hasta 21.5% (Figura 30).

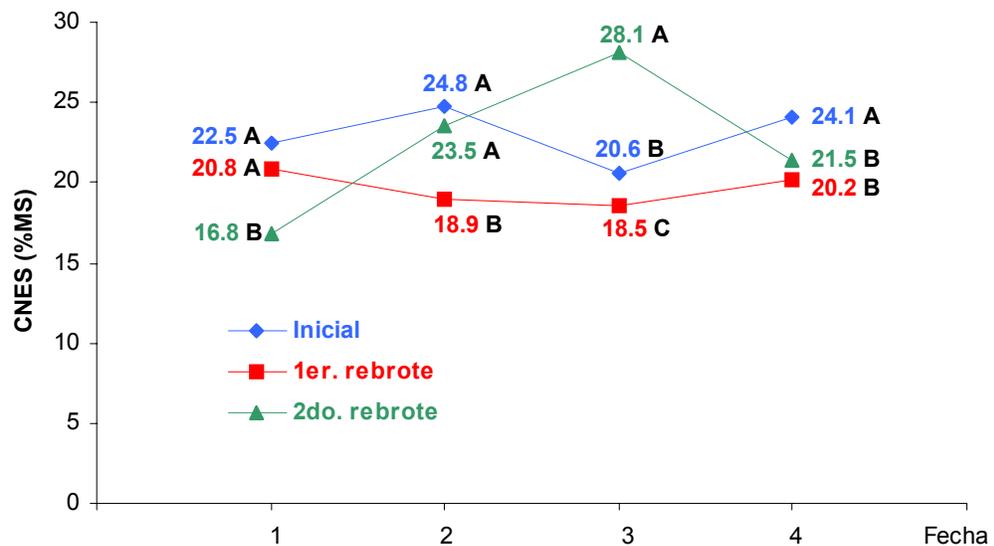


Figura 30. Interacción entre la fecha de corte (1 a 4) y el ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual. Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre ciclos dentro de la misma fecha de corte.

La fertilización disminuyó el %CNES (23.9% y 19.5% para 0N y 120N, respectivamente; Cuadro 18) y esto fue independiente de la fecha de corte (interacción Fecha*N no significativa, Cuadro 16). Sin embargo, dicha diferencia varió en función del ciclo de crecimiento (interacción N*Ciclo significativa, Cuadro 16). Como se observa en la Figura 31, la diferencia en cuanto al %CNES entre niveles de fertilización se redujo a medida que transcurrieron los ciclos de crecimiento, tanto que en el segundo rebrote dicha diferencia no fue estadísticamente significativa ($P > 0.10$, Cuadro 11).

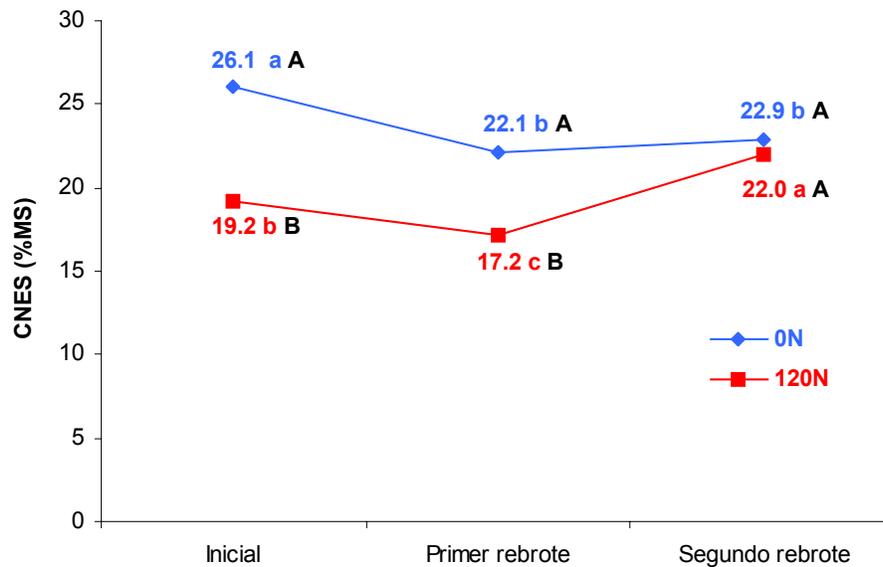


Figura 31. Interacción entre el nivel de fertilización nitrogenada (N, kg/ha) y el ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P<0.10$) entre ciclos dentro del mismo nivel de N. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre niveles de N dentro del mismo ciclo.

El %CNES varió entre los diferentes ciclos de crecimiento (23.0%, 19.6% y 22.5% para el ciclo inicial, primer y segundo rebrotes, respectivamente; Cuadro 18) y esto fue variable en función de la fecha de corte (interacción Fecha*Ciclo significativa) y del nivel de N aplicado (interacción N*Ciclo significativa, Cuadro 16). En la mayoría de las fechas de corte, el %CNES fue mayor durante el ciclo inicial (otoño) respecto de los rebrotes, a pesar de que la fecha no tuvo efectos significativos sobre el %CNES en dicho ciclo (Figura 30). A su vez, en la mayoría de las fechas, el %CNES fue inferior durante el primer rebrote (inicio de invierno) respecto de los ciclos restantes.

El efecto del ciclo de crecimiento fue dependiente del nivel de N aplicado (Figura 31). Cuando se aplicaron 120 kgN/ha el %CNES disminuyó entre el ciclo inicial (19.2%) y el primer rebrote (17.2%) y aumentó entre éste y el segundo rebrote (22.0%), alcanzando el mayor valor. Cuando no se aplicó fertilizante, el %CNES disminuyó entre el ciclo inicial (26.1%) y el primer rebrote (22.1%) y a partir de allí se mantuvo constante (Figura 31).

Tanto la fecha de corte como el nivel de N aplicado como el ciclo de crecimiento presentaron efectos significativos ($P<0.10$) sobre el %PB del forraje (Cuadro 16). El %PB disminuyó con las fechas de corte, desde 21.1% hasta 14.8% (Cuadro 19) y la reducción fue mayor en los tratamientos fertilizados (8.1 unidades porcentuales, Figura 32) respecto de los no fertilizados (4.6 unidades; interacción Fecha*N significativa, Cuadro 16).

Cuadro 19. Contenido de proteína bruta (%) en la materia seca de raigrás anual en diferentes fechas de corte, niveles de nitrógeno (N) y ciclos de crecimiento.

CICLO	N (kg/ha)	FECHA				Media ¹	EEM ²	
		1	2	3	4			
INICIAL	0	20.8	15.3	18.0	15.1	21.6	0.34	
	120	26.8	26.6	26.2	24.0			
1er. REBROTE	0	17.4	16.2	13.9	14.4	17.5	0.34	
	120	26.9	19.0	17.7	14.8			
2do. REBROTE	0	15.0	11.0	10.2	9.7	12.4	0.34	
	120	20.0	12.1	10.9	10.6			
Media ¹		21.1	16.7	16.1	14.8			
EEM ²		0.55	0.55	0.55	0.55			
Media ¹	0 N	120 N						
	14.8	19.6						
EEM ²	0.31	0.31						

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

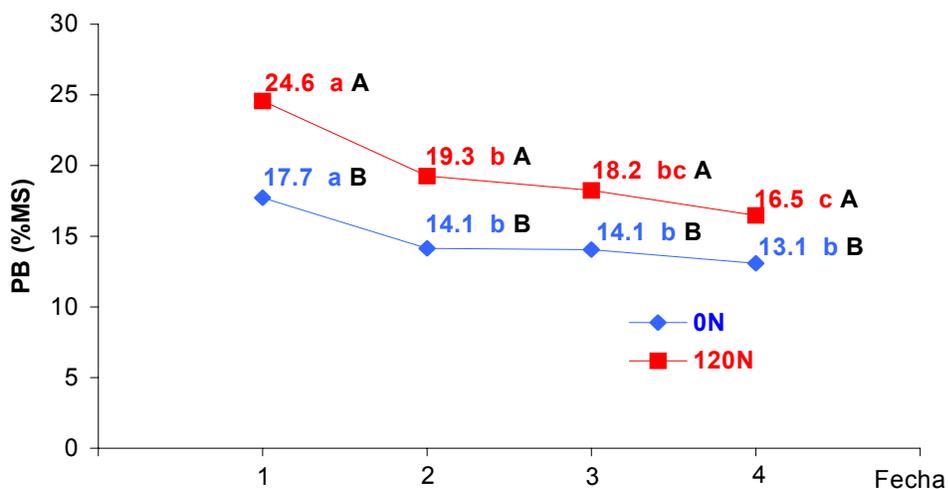


Figura 32. Interacción entre la fecha de corte (1 a 4) y el nivel de nitrógeno (N, kg/ha) sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre fechas dentro del mismo nivel de N. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre niveles de N dentro de la misma fecha.

El efecto de la fecha de corte sobre el %PB también fue dependiente del ciclo de crecimiento (interacción Fecha*Ciclo significativa, Cuadro 16). Durante el ciclo inicial, el %PB no fue afectado por la fecha de corte (Cuadro 3) mientras que durante los rebrotes, la fecha tuvo efectos significativos (Cuadros 7 y 11). Durante el ciclo inicial el %PB se mantuvo sin variaciones significativas oscilando entre 19.6% y 23.8% (Figura 33). Durante los rebrotes el contenido de PB disminuyó con la misma intensidad (7.4 unidades porcentuales), desde 22.2% hasta 14.6% en el primer rebrote y desde 17.5% hasta 10.2% en el segundo rebrote (Figura 33).

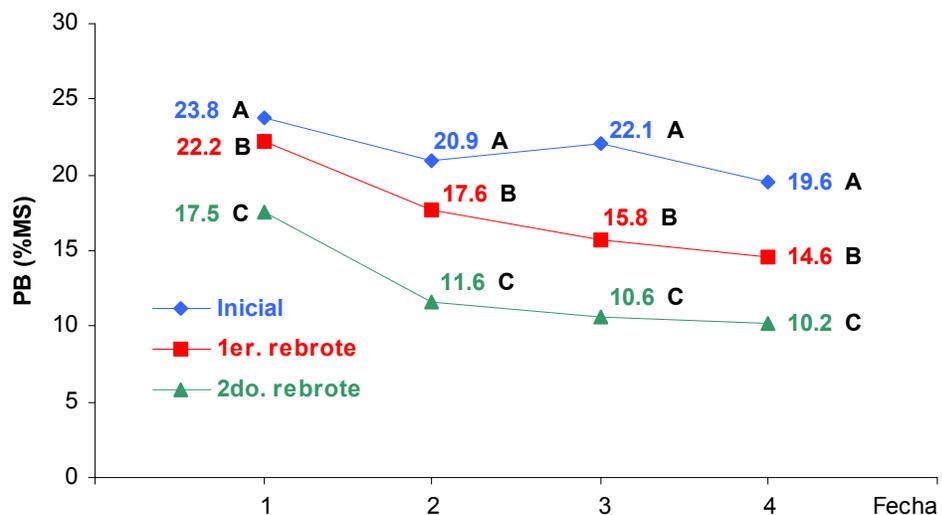


Figura 33. Interacción entre la fecha de corte (1 a 4) y el ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual. Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre ciclos dentro de la misma fecha de corte.

La interacción entre la fecha de corte y el nivel de N fue dependiente del ciclo de crecimiento (interacción Fecha*N*Ciclo significativa, Cuadro 16). Durante el ciclo inicial la interacción no fue significativa (Cuadro 3), mientras que fue significativa en los dos rebrotes (Cuadros 7 y 11). El efecto de la interacción triple sobre el %PB puede observarse en la Figura 34. Durante el ciclo inicial el %PB se mantuvo invariable a través de las fechas y esta falta de efecto se presentó con ambos niveles de N (Figura 34). Durante el primer rebrote, la reducción en el %PB a través de las fechas en los tratamientos no fertilizados siguió una tendencia lineal mientras que en los tratamientos fertilizados siguió una tendencia de tipo cuadrática (Figura 34). Dicha reducción fue mayor

en los tratamientos fertilizados (12.1 unidades porcentuales) respecto de los no fertilizados (3.0 unidades). Durante el segundo rebrote, la reducción en el %PB a través de las fechas siguió una tendencia similar con ambos niveles de N, aunque la reducción fue mayor en los tratamientos fertilizados (9.4 unidades porcentuales) respecto de los no fertilizados (5.3 unidades, Figura 34).

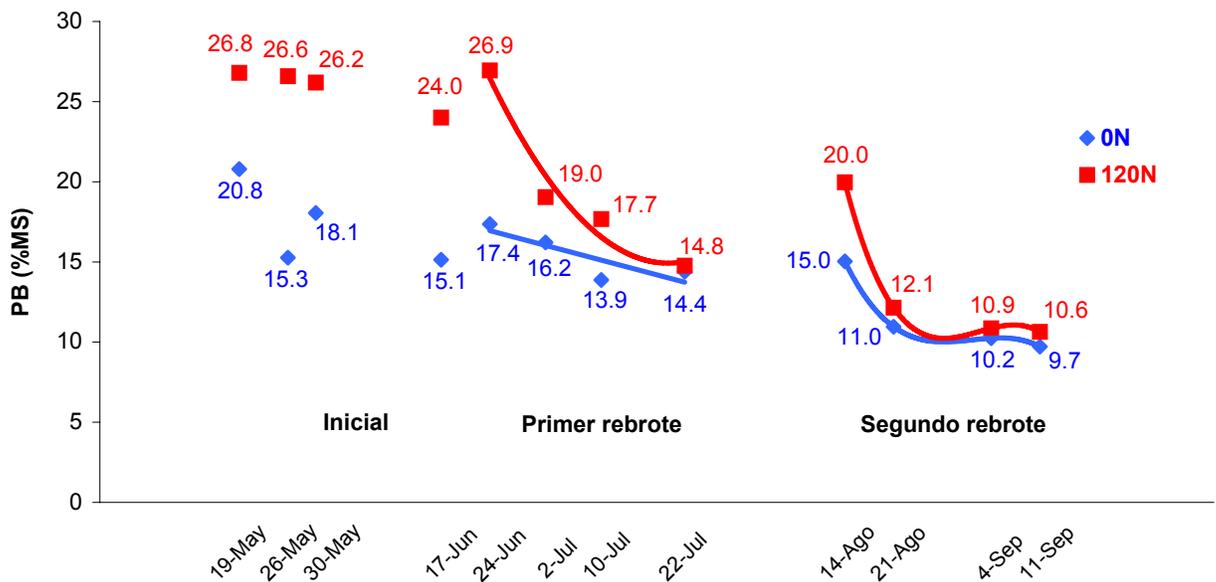


Figura 34. Interacción entre la fecha de corte, nivel de nitrógeno (N, kg/ha) y ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual.

La fertilización aumentó el %PB (14.8% y 19.6% para 0N y 120N, respectivamente; Cuadro 19), aunque la diferencia entre tratamientos fertilizados y no fertilizados disminuyó desde 8.0 unidades porcentuales en el ciclo inicial (Figura 35) hasta 1.9 unidades en el segundo rebrote (interacción N*Ciclo significativa, Cuadro 16). Esta diferencia también disminuyó a medida que transcurrieron las fechas, desde 6.9 unidades porcentuales en la primer fecha hasta 3.4 unidades en la cuarta fecha de corte (interacción Fecha*N significativa, Cuadro 16 y Figura 32). Esta tendencia se presentó durante los rebrotes y no así en el ciclo inicial (Figura 34), lo cual explica en parte la presencia de una interacción triple significativa (Cuadro 16). Durante el ciclo inicial la diferencia en cuanto al %PB entre niveles de N (8.0 unidades porcentuales, Cuadro 6) fue independiente de la fecha (interacción Fecha*N no significativa, Cuadro 3).

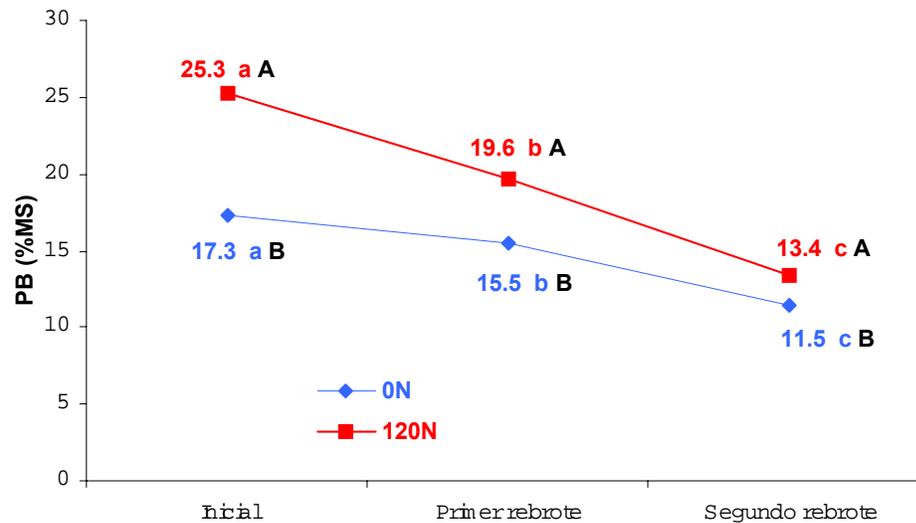


Figura 35. Interacción entre el nivel de fertilización nitrogenada (N, kg/ha) y el ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre ciclos dentro del mismo nivel de N. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre niveles de N dentro del mismo ciclo.

A medida que transcurrieron los ciclos de crecimiento, el %PB se redujo desde 21.6% en el ciclo inicial, 17.5% en el primer rebrote, hasta 12.4% en el segundo rebrote (Cuadro 19). El efecto del ciclo de crecimiento fue variable en función de la fecha de corte (interacción Fecha*Ciclo significativa, Cuadro 16). La diferencia en %PB entre el ciclo inicial y cada uno de los rebrotes fue aumentando a medida que transcurrieron las fechas de corte dado que durante el ciclo inicial el %PB se mantuvo invariable a través de las fechas mientras que durante los rebrotes el %PB disminuyó con el transcurso de las fechas. La diferencia en %PB entre el primer y segundo rebrote se mantuvo relativamente constante a través de las fechas ya que el efecto de la fecha de corte sobre el %PB fue similar en ambos rebrotes (Figura 33).

El efecto del ciclo de crecimiento fue diferente según el nivel de N aplicado (interacción N*Ciclo significativa, Cuadro 16). La diferencia entre ciclos fue mayor en los tratamientos fertilizados respecto de los no fertilizados (11.9 y 5.8 unidades porcentuales de disminución entre el ciclo inicial y el segundo rebrote para 120N y 0N, respectivamente; Figura 35).

4.3. Análisis III: Evaluación del efecto del *nivel de heliofanía (nublado o soleado)*, *nivel de nitrógeno y cantidad de días soleados o nublados (1, 2 y 3 días)* durante el ciclo de acumulación inicial de forraje y durante el segundo rebrote.

4.3.1. Ciclo inicial de crecimiento.

En el Cuadro 20 se presentan los resultados del análisis de varianza para el efecto del nivel de heliofanía, nivel de fertilización y cantidad de días soleados o nublados durante el ciclo inicial de crecimiento sobre la composición química del forraje.

Cuadro 20. Efecto del nivel de heliofanía (nublado o soleado), nivel de nitrógeno (0 y 120 kgN/ha) y cantidad de días soleados o nublados (1, 2 y 3) durante el ciclo de acumulación inicial de forraje sobre el porcentaje de materia seca (MS), carbohidratos no estructurales solubles (CNES) y proteína bruta (PB) de raigrás anual.

EFEECTO	MS	CNES	PB
	<i>P</i>	<i>P</i>	<i>P</i>
Heliofanía	0.04	ns	ns
Nitrógeno	0.03	0.03	0.01
Heliofanía*Nitrógeno	ns ¹	ns	ns
Cant. días (CD)	< 0.01	0.05	ns
Heliofanía*CD	0.07	< 0.01	0.02
Nitrógeno*CD	ns	ns	ns
Heliofanía*Nitrógeno*CD	ns	ns	ns

¹ ns $P > 0.10$

El nivel de heliofanía, de fertilización y la cantidad de días nublados o soleados tuvieron efecto sobre el %MS del forraje. Durante la sucesión de días nublados, el %MS fue menor (12.4%) respecto de la de días soleados (15.9%, Cuadro 21). Los días soleados siempre presentaron un %MS mayor al de los días nublados y la interacción entre el nivel de heliofanía y la cantidad de días se debió a que el %MS aumentó durante la sucesión de días soleados (15.7% a 16.5%, Figura 36) mientras que disminuyó entre el primer (12.5%) y segundo día nublado (11.2%).

Cuadro 21. Contenido de materia seca (%) en el forraje de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno (N), durante uno, dos y tres días consecutivos nublados o soleados en el ciclo de acumulación inicial.

HELIOFANÍA	N (kg/ha)	CANTIDAD de DIAS			Media ¹	EEM ²
		1	2	3		
NUBLADO	0	13.1	11.7	14.4	12.4	0.39
	120	11.9	10.8	12.8		
SOLEADO	0	16.6	15.7	17.1	15.9	0.39
	120	14.7	15.4	16.1		
Media ¹	0 N	120 N				
	14.7	13.6				
EEM ²	0.39	0.39				

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

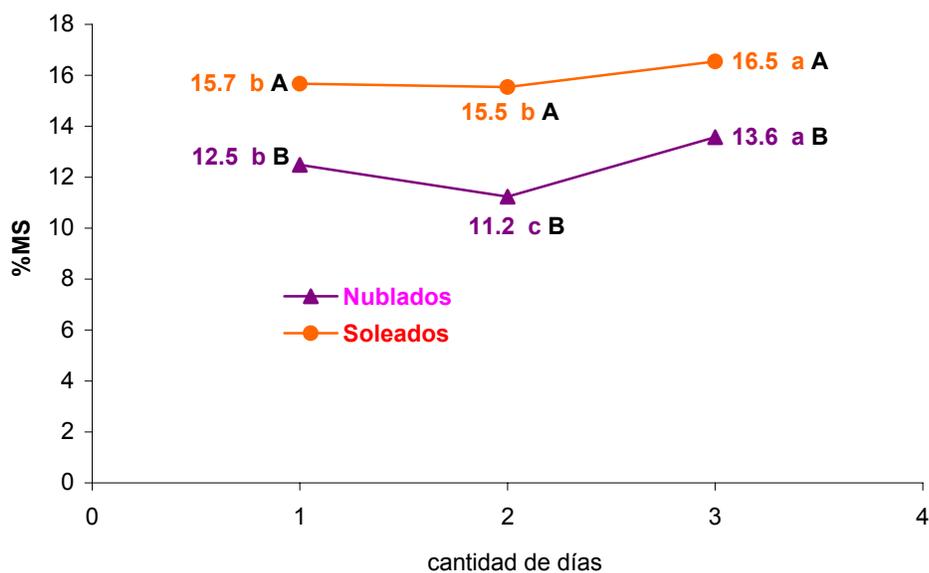


Figura 36. Interacción entre la heliofanía (nublado o soleado) y la cantidad de días nublados o soleados sobre el porcentaje de materia seca en el forraje de raigrás anual durante el ciclo inicial de crecimiento. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre días dentro del mismo nivel de heliofanía. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre niveles de heliofanía dentro de la misma cantidad de días.

La fertilización disminuyó el %MS del forraje (14.7% y 13.6% para 0N y 120N, respectivamente, Cuadro 21) y este efecto se mantuvo constante a través de los dos

niveles de heliofanía y las distintas cantidades de días (interacciones Heliofanía*N y N*CD no significativas, Cuadro 20).

En el Cuadro 22 se presenta el contenido de carbohidratos no estructurales para cada uno de los tratamientos evaluados.

Cuadro 22. Contenido de carbohidratos no estructurales solubles (%) en la materia seca de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno (N), durante uno, dos y tres días consecutivos nublados o soleados en el ciclo de acumulación inicial.

HELIOFANÍA	N (kg/ha)	CANTIDAD de DIAS			Media ¹	EEM ²
		1	2	3		
NUBLADO	0	24.5	16.7	15.2	15.6	0.63
	120	17.7	9.4	10.1		
SOLEADO	0	18.5	19.2	21.1	18.3	0.63
	120	14.5	16.7	19.4		
Media ¹	0 N	120 N				
	19.3	14.6				
EEM ²	0.63	0.63				

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

El contenido promedio de CNES durante una sucesión de días nublados (15.6%, Cuadro 22) fue similar ($P>0.10$, Cuadro 20) al de una sucesión de días soleados (18.3%), aunque esta falta de efecto del nivel de heliofanía fue dependiente de la cantidad de días nublados o soleados (interacción Heliofanía*CD significativa, Cuadro 20). Durante el primer día el %CNES fue superior (21.1%) en la sucesión de días nublados respecto de los soleados (16.5%), mientras que esta situación se revirtió a partir del segundo día (4.8 y 8.0 unidades porcentuales a favor de los días soleados durante el segundo y tercer día, respectivamente; Figura 37). Durante la sucesión de días nublados el %CNES disminuyó entre el primer (21.1%) y segundo día (13.1%) y partir de allí se mantuvo constante (Figura 37). Durante la sucesión de días soleados el %CNES aumentó con el transcurso de los días (16.5% y 20.6% para el primer y tercer día, respectivamente; Figura 37). El efecto de tres días nublados consecutivos fue mayor (8.5 unidades porcentuales de

disminución) respecto de tres días soleados consecutivos (4.1 unidades de aumento, Figura 37).

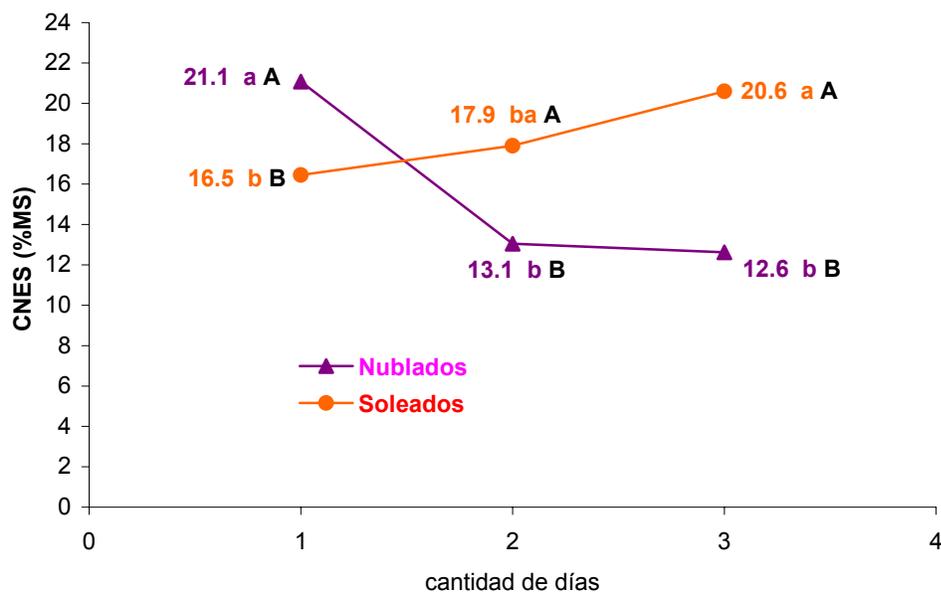


Figura 37. Interacción entre la heliofanía (nublado o soleado) y la cantidad de días nublados o soleados sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual durante el ciclo inicial de crecimiento. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre días dentro del mismo nivel de heliofanía. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre niveles de heliofanía dentro de la misma cantidad de días.

El efecto de una sucesión de días soleados o nublados sobre el %CNES fue independiente del nivel de N aplicado (interacciones Heliofanía*N y N*CD no significativas, Cuadro 20).

El agregado de N disminuyó el %CNES del forraje (19.3% y 14.6% para 0N y 120N, respectivamente; Cuadro 22) y esta disminución fue constante a través de los niveles de heliofanía y de los días.

En el Cuadro 23 se presenta la concentración de PB en el forraje para cada uno de los tratamientos evaluados.

Cuadro 23. Contenido de proteína bruta (%) en la materia seca de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno (N), durante uno, dos y tres días consecutivos nublados o soleados en el ciclo de acumulación inicial.

HELIOFANÍA	N (kg/ha)	CANTIDAD de DIAS			Media ¹	EEM ²
		1	2	3		
NUBLADO	0	18.4	18.7	18.6	22.3	0.60
	120	22.2	27.6	28.7		
SOLEADO	0	17.0	15.8	14.3	19.2	0.60
	120	25.3	23.0	20.2		
Media ¹	0 N	120 N				
	17.1	24.5				
EEM ²	0.60	0.60				

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

El nivel de heliofanía no tuvo efectos significativos sobre el %PB ($P > 0.10$, Cuadro 20), aunque esto fue dependiente de la cantidad de días nublados o soleados (interacción Heliofanía*CD significativa, Cuadro 20). El %PB en el primer día nublado fue similar al del primer día soleado (20.7%, Figura 38) y a partir del segundo día, el %PB fue mayor en los días nublados respecto de los soleados. Durante la sucesión de días nublados el %PB aumentó entre el primer (20.3%) y segundo día (23.1%) y luego se mantuvo constante (Figura 38). Durante la sucesión de días soleados el %PB disminuyó con el transcurso de los días (21.1% y 17.2% para el primer y tercer día, respectivamente; Figura 38).

El efecto de una sucesión de días soleados o nublados sobre el %PB fue independiente del nivel de N aplicado (interacciones Heliofanía*N y N*CD no significativas, Cuadro 20). La fertilización resultó en un incremento en el %PB del forraje (17.1% y 24.5% para 0N y 120N, respectivamente; Cuadro 23) y esta disminución fue constante a través de los dos niveles de heliofanía y de los días.

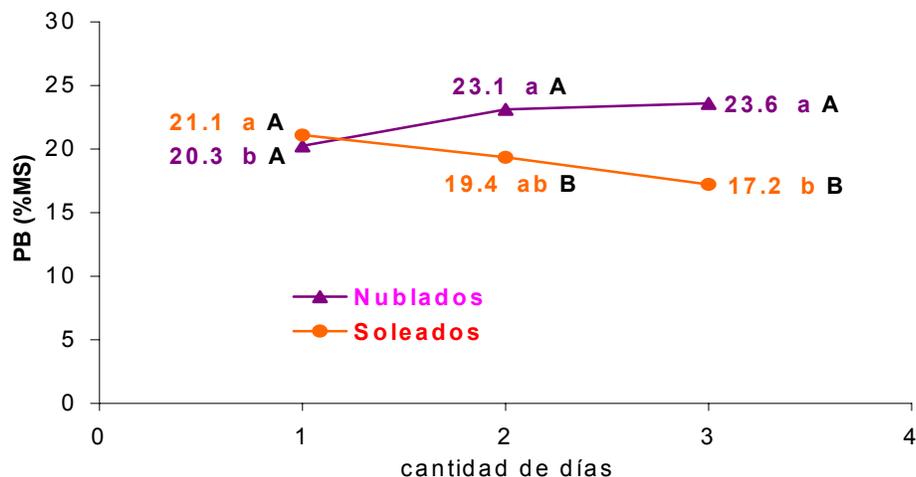


Figura 38. Interacción entre la heliofanía (nublado o soleado) y la cantidad de días nublados o soleados sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual durante el ciclo inicial de crecimiento. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre días dentro del mismo nivel de heliofanía. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre niveles de heliofanía dentro de la misma cantidad de días.

4.3.2. Segundo rebrote.

En el Cuadro 24 se presenta el efecto del nivel de heliofanía, fertilización y cantidad de días soleados o nublados sobre la composición química del forraje durante el segundo rebrote.

Cuadro 24. Efecto del nivel de heliofanía (nublado o soleado), nivel de nitrógeno (0 y 120 kgN/ha) y cantidad de días soleados o nublados (1, 2 y 3) durante el segundo rebrote sobre el porcentaje de materia seca (MS), carbohidratos no estructurales solubles (CNES) y proteína bruta (PB) de raigrás anual.

EFEECTO	MS	CNES	PB
	<i>P</i>	<i>P</i>	<i>P</i>
Heliofanía	0.04	0.08	ns
Nitrógeno	0.08	ns	ns
Heliofanía*Nitrógeno	ns ¹	ns	ns
Cant. días (CD)	< 0.01	ns	ns
Heliofanía*CD	< 0.01	0.04	ns
Nitrógeno*CD	ns	ns	ns
Heliofanía*Nitrógeno*CD	ns	ns	ns

¹ ns $P > 0.10$

Durante los días nublados, el %MS del forraje fue inferior (12.7%, Cuadro 25) respecto de los días soleados (24.3%) y esta diferencia tendió a incrementarse hacia el final de la sucesión (Figura 39; interacción Heliofanía*CD significativa, Cuadro 24).

Cuadro 25. Contenido de materia seca (%) en el forraje de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno (N), durante uno, dos y tres días consecutivos nublados o soleados en el segundo rebrote.

HELIOFANÍA	N (kg/ha)	CANTIDAD de DIAS			Media ¹	EEM ²
		1	2	3		
NUBLADO	0	13.7	14.4	13.7	12.7	0.58
	120	10.8	12.3	11.0		
SOLEADO	0	24.4	24.7	26.0	24.3	0.58
	120	22.3	23.4	24.8		
Media ¹	0 N	120 N				
	19.5	17.4				
EEM ²	0.51	0.51				

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

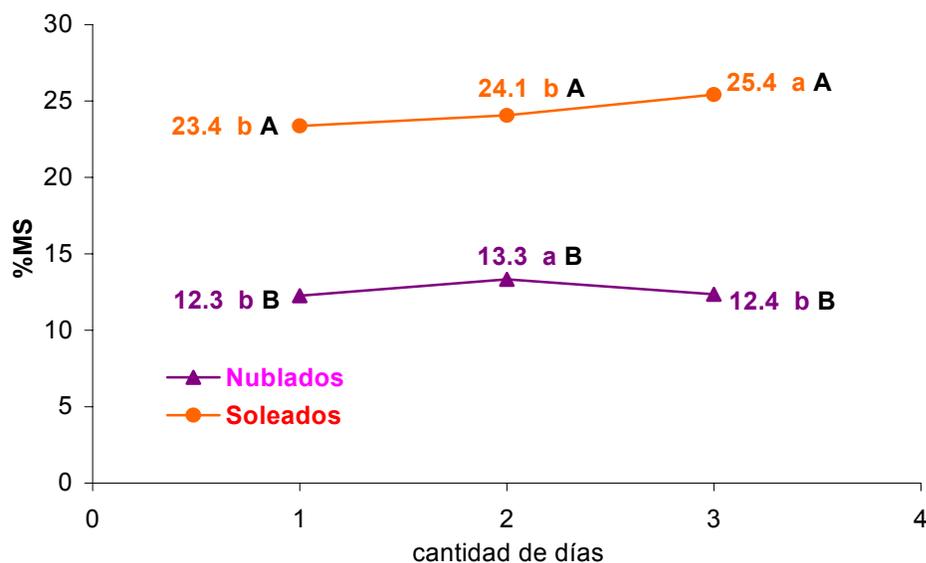


Figura 39. Interacción entre la heliofanía (nublado o soleado) y la cantidad de días nublados o soleados sobre el porcentaje de materia seca en el forraje de raigrás anual durante el segundo rebrote. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre días dentro del mismo nivel de heliofanía. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre niveles de heliofanía dentro de la misma cantidad de días.

El %MS aumentó entre el primer y tercer día soleado (23.4% y 25.4%, respectivamente; Figura 39), mientras que entre el primer y tercer día nublado, el %MS se mantuvo sin variaciones significativas.

La fertilización disminuyó el %MS del forraje (Cuadro 25) y esta reducción fue constante a través de los niveles de heliofanía y de los días.

Cuadro 26. Contenido de carbohidratos no estructurales solubles (%) en la materia seca de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno (N), durante uno, dos y tres días consecutivos nublados o soleados en el segundo rebrote.

HELIOFANÍA	N (kg/ha)	CANTIDAD de DIAS			Media ¹	EEM ²
		1	2	3		
NUBLADO	0	17.8	15.1	16.2	14.1	1.12
	120	13.8	11.1	10.9		
SOLEADO	0	25.3	29.1	31.3	26.8	1.19
	120	23.2	27.8	24.0		
Media ¹	0 N					
	120 N					
		22.4	18.4			
EEM ²		1.06	1.06			

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

Durante los días nublados, el %CNES fue inferior (14.1%, Cuadro 26) respecto de los días soleados (26.8%), aunque dicha diferencia aumentó hacia el final de la sucesión (interacción Heliofanía*CD significativa, Cuadro 24 y Figura 40).

Durante la sucesión de días soleados, el %CNES se incrementó entre el primer y segundo día y luego se mantuvo constante (Figura 40). Durante la sucesión de días nublados, el %CNES se mantuvo sin variaciones significativas ($P>0.10$).

La fertilización nitrogenada no afectó el %CNES ($P>0.10$, Cuadro 24).

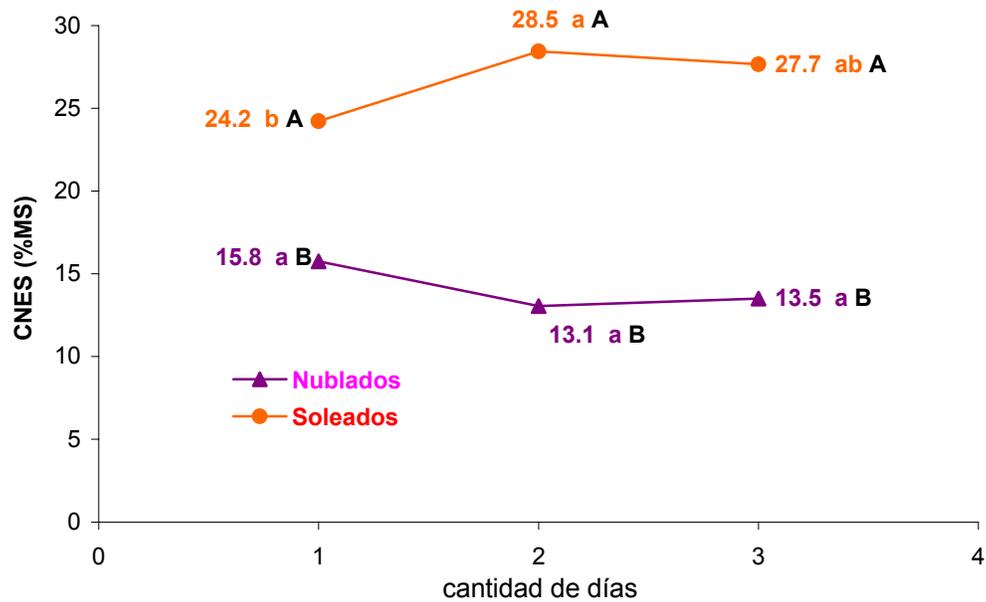


Figura 40. Interacción entre la heliofanía (nublado o soleado) y la cantidad de días nublados o soleados sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles en la materia seca de raigrás anual durante el segundo rebrote. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre días dentro del mismo nivel de heliofanía. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre niveles de heliofanía dentro de la misma cantidad de días.

El contenido de PB no presentó variaciones ante ninguno de los tratamientos evaluados ($P > 0.10$, Cuadro 24). Durante los días nublados el %PB fue numéricamente mayor (19.0%) respecto de los días soleados (11.6%, Cuadro 27).

Cuadro 27. Contenido de proteína bruta (%) en la materia seca de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno (N), durante uno, dos y tres días consecutivos nublados o soleados en el segundo rebrote.

HELIOFANÍA	N (kg/ha)	CANTIDAD de DIAS			Media ¹	EEM ²
		1	2	3		
NUBLADO	0	16.3	17.0	16.9	19.0	1.01
	120	20.4	21.2	22.0		
SOLEADO	0	11.4	10.8	11.9	11.6	1.01
	120	11.1	11.9	13.0		
Media ¹	0 N	120 N				
	14.0	16.6				
EEM ²	0.89	0.89				

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

4.4. Análisis IV: Evaluación del efecto del nivel de nitrógeno, cantidad de días (1, 2 y 3 días) y ciclo de crecimiento en una sucesión de días nublados y una de días soleados.

4.4.1. Sucesión de días nublados.

En el Cuadro 28 se presenta el efecto del nivel de N, de la cantidad de días nublados y del ciclo de crecimiento sobre la composición química del forraje.

Cuadro 28. Efecto del nivel de nitrógeno (0 y 120 kgN/ha), cantidad de días nublados (1, 2 y 3) y ciclo de crecimiento (acumulación inicial y segundo rebrote) sobre el porcentaje de materia seca (MS), carbohidratos no estructurales solubles (CNES) y proteína bruta (PB) de raigrás anual.

EFEECTO	MS	CNES	PB
	<i>P</i>	<i>P</i>	<i>P</i>
Nitrógeno	ns ¹	ns	ns
Cant. días nublados (CDN)	ns	0.02	ns
Nitrógeno*CDN	ns	ns	ns
Ciclo	ns	ns	0.01
Nitrógeno*Ciclo	ns	ns	ns
CDN*Ciclo	0.02	ns	ns
Nitrógeno*CDN*Ciclo	ns	ns	ns

¹ ns $P > 0.10$

La fertilización no afectó el %MS del forraje ($P > 0.10$, Cuadro 28). El %MS del forraje se mantuvo invariable a medida que transcurrieron los días nublados (12.4%, 12.3% y 13.0% para el primer, segundo y tercer día nublado, respectivamente; Cuadro 29), aunque esto no se evidenció dentro de cada ciclo de crecimiento (interacción CDN*Ciclo significativa, Cuadro 28). Durante el ciclo inicial el %MS se redujo entre el primer (12.5%, Figura 41) y segundo día nublado (11.2%), mientras que durante el segundo rebrote, la disminución en el %MS se produjo entre el segundo (13.3%) y tercer día nublado (12.4%). La magnitud de la reducción en el %MS fue similar en ambos ciclos de crecimiento (1.1 unidades porcentuales).

El %MS durante una sucesión de días nublados no fue afectado por el ciclo de crecimiento (12.4% y 12.7% para el ciclo inicial y segundo rebrote, respectivamente; Cuadro 29).

Cuadro 29. Contenido de materia seca (%) en el forraje de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno (N), durante uno, dos y tres días nublados consecutivos y en diferentes ciclos de crecimiento.

CICLO	N (kg/ha)	CANTIDAD de DIAS NUBLADOS			Media ¹	EEM ²
		1	2	3		
INICIAL	0	13.1	11.7	14.4	12.4	0.24
	120	11.9	10.8	12.8		
2do. REBROTE	0	13.7	14.4	13.7	12.7	0.24
	120	10.8	12.3	11.0		
Media ¹		12.4	12.3	13.0		
EEM ²		0.30	0.30	0.30		
Media ¹	0 N	120 N				
	13.5	11.6				
EEM ²	0.24	0.24				

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

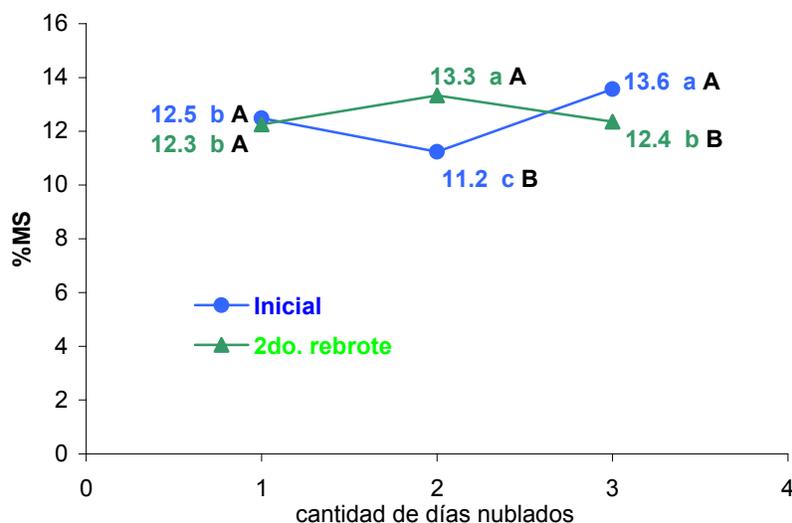


Figura 41. Interacción entre el ciclo de crecimiento y la cantidad de días nublados sobre el porcentaje de materia seca en el forraje de raigrás anual. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre días dentro del mismo ciclo de crecimiento, según los resultados del análisis III. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre ciclos dentro de la misma cantidad de días.

En el Cuadro 30 se presenta el contenido de CNES en el forraje para cada uno de los tratamientos evaluados.

Cuadro 30. Contenido de carbohidratos no estructurales solubles (%) en la materia seca de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno (N), durante uno, dos y tres días nublados consecutivos y en diferentes ciclos de crecimiento.

CICLO	N (kg/ha)	CANTIDAD de DIAS NUBLADOS			Media ¹	EEM ²
		1	2	3		
INICIAL	0	24.5	16.7	15.2	15.6	1.02
	120	17.7	9.4	10.1		
2do. REBROTE	0	17.8	15.1	16.2	14.1	1.02
	120	13.8	11.1	10.9		
Media ¹		18.4	13.1	13.1		
EEM ²		1.2	1.2	1.2		
Media ¹	0 N	120 N				
	17.6	12.1				
EEM ²	1.23	1.23				

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

Los tratamientos fertilizados presentaron un %CNES menor (12.1%, Cuadro 30) respecto de los no fertilizados (17.6%), aunque esta diferencia no fue significativa ($P>0.10$, Cuadro 28).

El %CNES disminuyó entre los dos primeros días nublados y luego se mantuvo constante (Cuadro 30). Este comportamiento no fue afectado por el nivel de N aplicado ni por el ciclo (interacciones Nitrógeno*CDN, CDN*Ciclo y Nitrógeno*CDN*Ciclo no significativas, Cuadro 28).

El %CNES durante una sucesión de días nublados no fue afectado por el ciclo de crecimiento ($P>0.10$; Cuadro 28).

En el Cuadro 28 se observa que sólo el ciclo de crecimiento tuvo un efecto significativo sobre el %PB del forraje, siendo mayor durante el ciclo inicial (22.3%, Cuadro 31) respecto del segundo rebrote (19.0%). Esta diferencia se mantuvo a través de los días nublados (interacción CDN*Ciclo no significativa, Cuadro 28) y de los dos niveles de N (interacción Nitrógeno*Ciclo no significativa).

Cuadro 31. Contenido de proteína bruta (%) en la materia seca de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno (N), durante uno, dos y tres días nublados consecutivos y en diferentes ciclos de crecimiento.

CICLO	N (kg/ha)	CANTIDAD de DIAS NUBLADOS			Media ¹	EEM ²
		1	2	3		
INICIAL	0	18.4	18.7	18.6	22.3	0.81
	120	22.2	27.6	28.7		
2do. REBROTE	0	16.3	17.0	16.9	19.0	0.81
	120	20.4	21.2	22.0		
Media ¹		19.3	21.1	21.5		
EEM ²		0.94	0.94	0.94		
Media ¹	0 N	120 N				
	17.6	23.7				
EEM ²	0.91	0.91				

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

4.4.2. Sucesión de días soleados.

Como se observa en el Cuadro 32, sólo los efectos principales (Ciclo, Nitrógeno y Cantidad de días soleados) presentaron efectos significativos sobre el %MS del forraje.

Cuadro 32. Efecto del nivel de nitrógeno (0 y 120 kgN/ha), cantidad de días soleados (1, 2 y 3) y ciclo de crecimiento (acumulación inicial y segundo rebrote) sobre el porcentaje de materia seca (MS), carbohidratos no estructurales solubles (CNES) y proteína bruta (PB) de raigrás anual.

EFECTO	MS	CNES	PB
	<i>P</i>	<i>P</i>	<i>P</i>
Ciclo	0.03	0.05	0.07
Nitrógeno	0.08	0.04	0.04
Ciclo*Nitrógeno	ns ¹	ns	0.05
Cant. días soleados (CDS)	< 0.01	< 0.01	ns
Ciclo*CDS	ns	ns	0.08
Nitrógeno*CDS	ns	ns	ns
Ciclo*Nitrógeno*CDS	ns	ns	ns

¹ ns *P* > 0.10

El contenido de MS del forraje fue mayor durante una sucesión de días soleados en el segundo rebrote (24.2%, Cuadro 33) que en el ciclo inicial (15.9%) y esta diferencia fue independiente del nivel de N aplicado y de la cantidad de días soleados (interacciones Ciclo*Nitrógeno y Ciclo*CDS no significativas, Cuadro 32).

Cuadro 33. Contenido de materia seca (%) en el forraje de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno (N), durante uno, dos y tres días soleados consecutivos y en diferentes ciclos de crecimiento.

CICLO	N (kg/ha)	CANTIDAD de DIAS SOLEADOS			Media ¹	EEM ²
		1	2	3		
INICIAL	0	16.6	15.7	17.0	15.9	0.55
	120	14.7	15.4	16.1		
2do. REBROTE	0	24.4	24.7	26.0	24.2	0.55
	120	22.3	23.4	24.8		
Media ¹		19.5	19.8	21.0		
EEM ²		0.55	0.55	0.55		
Media ¹	0 N	120 N				
	20.7	19.5				
EEM ²	0.55	0.55				

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

A medida que transcurrieron los días soleados el %MS se incrementó, principalmente entre el segundo (19.8%, Cuadro 33) y tercer día (21.0%). El nivel de N aplicado no modificó esta tendencia (interacción Nitrógeno*CDS no significativa, Cuadro 32), como así tampoco el ciclo de crecimiento (interacción Ciclo*CDS no significativa). La fertilización resultó en una disminución significativa aunque escasa en el contenido de MS del forraje (20.7% y 19.5% para 0N y 120N, respectivamente, Cuadro 33).

En el Cuadro 34 se presenta el contenido de CNES en el forraje para cada uno de los tratamientos evaluados.

Cuadro 34. Contenido de carbohidratos no estructurales solubles (%) en la materia seca de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno (N), durante uno, dos y tres días soleados consecutivos y en diferentes ciclos de crecimiento.

CICLO	N (kg/ha)	CANTIDAD de DIAS SOLEADOS			Media ¹	EEM ²
		1	2	3		
INICIAL	0	18.5	19.2	21.8	18.3	0.57
	120	14.5	16.7	19.4		
2do. REBROTE	0	25.3	29.1	31.0	26.8	0.62
	120	23.2	27.8	24.3		
Media ¹		20.3	23.2	24.1		
EEM ²		0.65	0.65	0.75		
Media ¹	0 N	120 N				
	24.1	21.0				
EEM ²	0.60	0.60				

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

El ciclo de crecimiento, el nivel de N aplicado y la cantidad de días soleados afectaron significativamente ($P < 0.10$) el %CNES y estos efectos fueron independientes entre sí (interacciones no significativas, Cuadro 32). El %CNES obtenido durante una sucesión de días soleados en el segundo rebrote fue mayor (26.8%, Cuadro 34) respecto de una sucesión en el ciclo inicial (18.3%). La fertilización disminuyó el %CNES de 24.1% (0N, Cuadro 34) a 21.0% (120N).

El %CNES aumentó a medida que transcurrieron los días soleados, desde 20.3% (primer día, Cuadro 34) hasta 24.1% (tercer día). Dicho aumento se produjo principalmente entre el primer (20.3%) y segundo día soleado (23.2%).

El %PB durante una sucesión de días soleados fue mayor en el ciclo inicial (19.2%, Cuadro 35) que en el segundo rebrote (11.6%). Esta diferencia fue dependiente del nivel de N aplicado (interacción Ciclo*Nitrógeno significativa, Cuadro 32), siendo menor en los tratamientos sin fertilización (4.4 unidades porcentuales) respecto de los fertilizados (10.8 unidades, Figura 42). A su vez, la diferencia entre ciclos de crecimiento fue variable a lo largo de la sucesión de días soleados (interacción Ciclo*CDS significativa, Cuadro 32), disminuyendo a medida que se acumularon los días de sol (Figura 43).

Cuadro 35. Contenido de proteína bruta (%) en la materia seca de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno (N), durante uno, dos y tres días soleados consecutivos y en diferentes ciclos de crecimiento.

CICLO	N (kg/ha)	CANTIDAD de DIAS SOLEADOS			Media ¹	EEM ²
		1	2	3		
INICIAL	0	17.0	15.8	14.3	19.2	0.55
	120	25.3	23.0	20.2		
2do. REBROTE	0	11.4	10.8	11.9	11.6	0.55
	120	11.1	11.9	13.0		
Media ¹		16.2	15.3	14.8		
EEM ²		0.67	0.67	0.67		
Media ¹	0 N	120 N				
	13.5	17.4				
EEM ²	0.55	0.55				

¹ Media ajustada

² Error estándar de la media

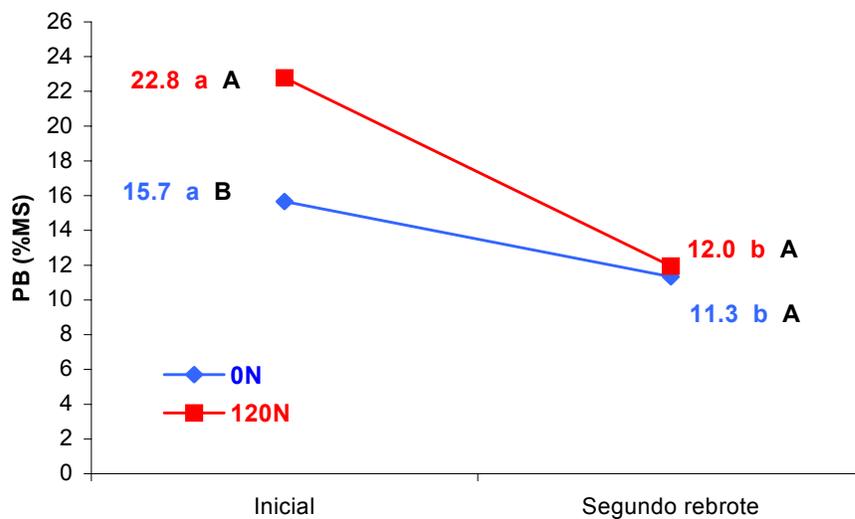


Figura 42. Interacción entre el nivel de fertilización nitrogenada (N, kg/ha) y el ciclo de crecimiento sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre ciclos dentro del mismo nivel de N. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre niveles de N dentro del mismo ciclo.

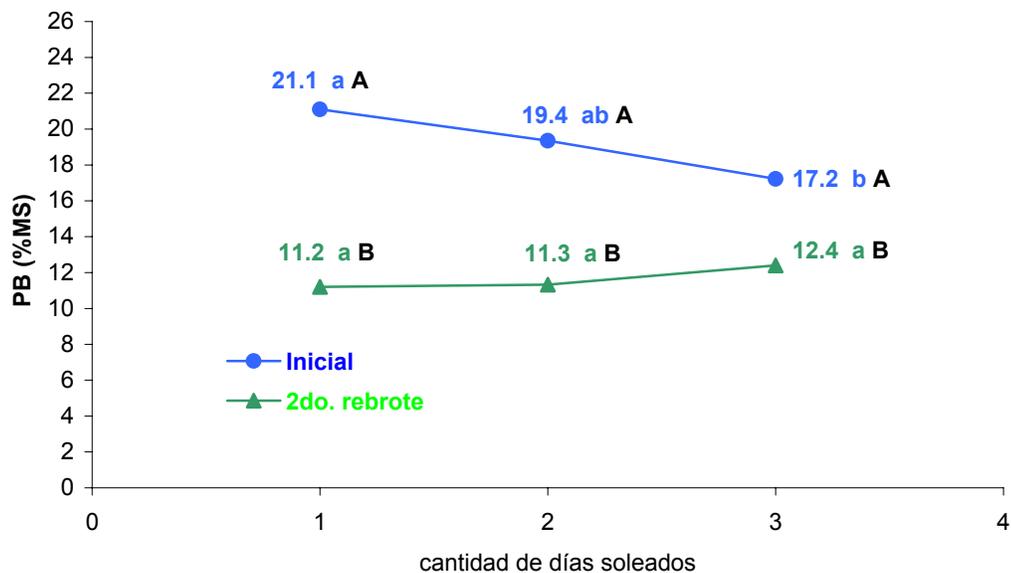


Figura 43. Interacción entre el ciclo de crecimiento y la cantidad de días soleados sobre el porcentaje de proteína bruta en la materia seca de raigrás anual. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas ($P < 0.10$) entre días dentro del mismo ciclo de crecimiento, según los resultados del análisis III. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre ciclos dentro de la misma cantidad de días.

La fertilización incrementó el %PB en el forraje sólo durante el ciclo inicial (Figura 42). La cantidad de días soleados no tuvo efecto sobre el %PB en el segundo rebrote mientras que durante el ciclo inicial, el %PB disminuyó desde 21.1% en el primer día soleado hasta 17.2% en el tercer día soleado (Figura 43).

5. DISCUSIÓN.

5.1. Tiempo de rebrote, biomasa acumulada y tasa de crecimiento.

Durante el ciclo inicial, a medida que avanzó la fecha de corte se incrementaron el tiempo de rebrote, la biomasa acumulada y la tasa de crecimiento describiendo así una curva de acumulación de biomasa a través del tiempo (Cuadro 36).

Cuadro 36. Tiempo de rebrote (días), biomasa acumulada (kgMS/ha) y tasa de crecimiento diaria (kgMS/ha/d) con dos niveles de fertilización (0 y 120 kgN/ha) durante tres ciclos de crecimiento (inicial, primer y segundo rebrotos).

Ciclo	Serie de corte	Fecha de corte	Tiempo de rebrote ¹	Biomasa ²		Tasa Crecimiento ²		Diferencia ³
				0N	120N	0N	120N	
Inicial (otoño)	S1	19 Mayo	41	903	1125	22	27	
	S2	26 Mayo	48	1060	1731	22	36	
	S3	30 Mayo	52	1563	2530	30	49	
	S4	17 Junio	70	2143	3126	31	45	
	S5	24 Junio	77	2907	3859	38	50	
				Promedio		29	41	12
1er. rebrote (inicio de invierno)	S1	24 Junio	36	579	1006	16	28	
	S2	02 Julio	37	464	1294	13	35	
	S3	10 Julio	41	1142	1210	28	30	
	S4	22 Julio	35	654	1095	19	31	
				Promedio		19	31	12
				Diferencia⁴		10	10	
2do. rebrote (invierno)	S1	14 Agos.	51	454	1263	9	25	
	S2	21 Agos.	50	312	601	6	12	
	S3	04 Sept.	56	688	1249	12	22	
	S4	11 Sept.	51	846	1460	17	29	
				Promedio		11	22	11
				Diferencia⁴		8	9	

¹en el ciclo inicial el tiempo de rebrote se cuenta a partir del día de la fertilización (8/4/03). En los rebrotos, el tiempo se cuenta desde el día en que la serie fue cortada en el ciclo anterior.

²Marino *et al.* (2003), datos no publicados.

³Diferencia en tasas de crecimiento promedio entre niveles de N dentro del mismo ciclo.

⁴Diferencia en tasas de crecimiento promedio entre ciclos de crecimiento sucesivos dentro de cada nivel de N.

Durante los rebrotos, tanto la biomasa como la tasa de crecimiento son menores y más uniformes entre fechas de corte respecto de las observadas en el ciclo inicial. Cada serie de corte tiene aproximadamente el mismo tiempo de rebrote de manera que la

biomasa observada en cada fecha de corte no contribuye a describir una curva de acumulación como en el caso del ciclo inicial. Por lo tanto, el efecto *Fecha de corte* tiene asociado un efecto *Biomasa*, *Tasa de crecimiento* y *Tiempo de rebrote* durante el ciclo inicial, mientras que durante los rebrotes el efecto *Fecha de corte* es simplemente una medida del momento del año.

La biomasa acumulada fue mayor en el ciclo inicial respecto de los rebrotes, debido a una mayor tasa de crecimiento del forraje y un mayor tiempo de rebrote de cada serie de corte (Cuadro 36). La mayor tasa de crecimiento en otoño estaría asociada a una mayor temperatura durante el período de crecimiento de cada serie de corte (Cuadro 1) y a una mayor disponibilidad de N proveniente del fertilizante (única aplicación el 8/4/03) y del suelo. La mayor edad o tiempo de crecimiento de cada serie de corte durante el ciclo inicial se debió a la metodología utilizada, donde durante el ciclo inicial una serie es cortada por semana, con lo cual cada serie presenta una mayor cantidad de días de crecimiento que la serie anterior. Luego de ese primer corte, cada una de las series es cortada nuevamente al mes, por lo cual, durante los rebrotes, todas las series tienen aproximadamente la misma edad.

5.2. Efecto de la *fecha de corte* sobre la composición química del forraje.

5.2.1. Proteína Bruta.

La concentración de N en la planta está asociada negativamente a la biomasa acumulada y positivamente a la cantidad de N disponible proveniente de la fertilización y del suelo (Lemaire y Gastal, 1997). Durante el ciclo inicial, la cantidad de N disponible para el crecimiento proveniente del fertilizante fue la misma en cada serie o fecha de corte (0 y 120 kgN/ha según el tratamiento). De esta manera, las posibles diferencias en cuanto al %PB entre fechas de corte deberían estar determinadas por diferencias en la biomasa acumulada, la cual fue aumentando a medida que transcurrieron las fechas (Cuadro 36). Sin embargo, dicho aumento de biomasa no se tradujo en una reducción significativa en el %PB ($P > 0.10$, Cuadro 3), lo cual podría estar asociado a una elevada y uniforme disponibilidad de N durante todo el ciclo. Fulkerson *et al.* (1998) observaron que el %PB en raigrás perenne se mantuvo invariable durante el ciclo de crecimiento primaveral con

fertilización nitrogenada al inicio del ciclo, mientras que durante el ciclo invernal, donde no se aplicó N, el %PB disminuyó a través de las fechas.

A su vez, en el ciclo inicial, el porcentaje de hojas fue elevado y poco variable a través de las fechas (Figura 44) lo cual contribuiría a la escasa variación observada en el %PB a medida que transcurrió el ciclo.

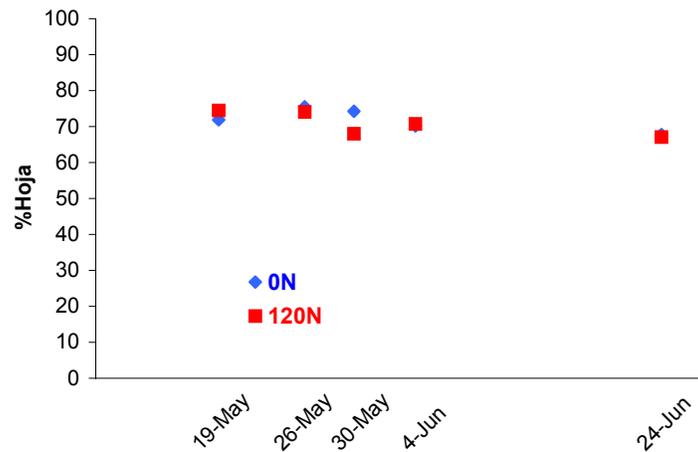


Figura 44. Porcentaje de hoja (peso hoja/peso total) en el forraje de raigrás anual fertilizado con dos niveles de nitrógeno (0 kgN/ha y 120 kgN/ha) durante el ciclo inicial de crecimiento. Marino *et al.* (2003), datos no publicados.

En la Figura 45 se observa que el %N se redujo a medida que aumentó la biomasa acumulada durante un ciclo de crecimiento primaveral (Lemaire y Salette, 1984) mientras que esto no se observó en el presente ensayo durante un ciclo otoñal. Esto podría estar asociado a una mayor proporción de tallos y vainas durante el ciclo primaveral lo cual contribuiría a una mayor tasa de dilución del nitrógeno a medida que se incrementa la biomasa. Boudon y Peyraud (2001) observaron que a medida que se acumuló la biomasa, la reducción en el %PB fue mayor en el ciclo primaveral respecto del otoñal, en el cual la proporción de vainas fue menor. Esto indica que un incremento de biomasa puede ser acompañado o no por una disminución en el %PB del forraje según la estación del año en la cual ocurre y según la proporción de vainas y/o tallos de la pastura.

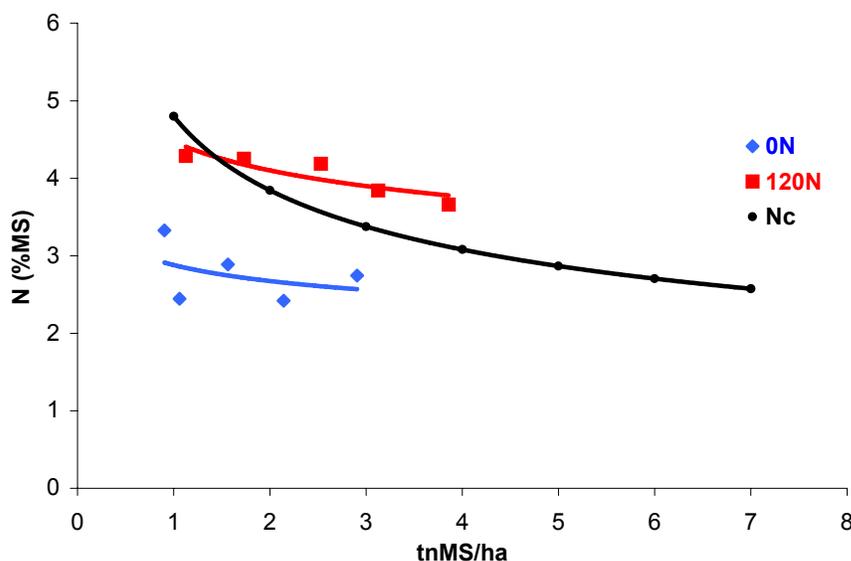


Figura 45. Efecto de la biomasa acumulada durante el ciclo inicial sobre el porcentaje de nitrógeno en la materia seca de raigrás anual con distintos niveles de fertilización nitrogenada (0 y 120 kgN/ha). **Nc** corresponde a la curva de concentración crítica de N (concentración mínima de N en la planta requerida para alcanzar la máxima tasa de crecimiento) según la ecuación propuesta por Lemaire y Salette (1984) donde $\%Nc=4.8 \cdot X^{-0.32}$.

A diferencia del ciclo otoñal, el %PB disminuyó a través de las fechas durante el primer y segundo rebrotes (Cuadros 10 y 14), a pesar de que la biomasa acumulada fue más uniforme entre series, no evidenciándose incrementos a medida que transcurrieron las fechas (Cuadro 36). Por lo cual, dicha reducción estaría asociada a una disminución en la cantidad de N disponible para el crecimiento a medida que transcurrieron las fechas. El N disponible se redujo a través de las fechas debido a un aumento progresivo de la cantidad de N absorbido⁴ en el ciclo inicial como resultado de aumentos en la biomasa acumulada. Durante el primer rebrote, el N disponible también podría verse disminuido como consecuencia de un menor aporte de N por parte del suelo debido a disminuciones de temperatura (Cuadro 1). Delagarde *et al.* (2000) observaron un efecto detrimental de la edad del rebrote sobre el %PB durante la primavera mientras que dicho efecto fue de escasa magnitud durante el ciclo de otoño. Estos resultados podrían estar asociados a diferencias en la disponibilidad de N entre ambas estaciones como así también a un aumento más pronunciado en la biomasa acumulada a través de las fechas durante el ciclo primaveral.

La disminución del %PB con la fecha de corte en el primer y segundo rebrote fue mayor en los tratamientos fertilizados respecto de los no fertilizados, tanto que al final del

⁴ N absorbido (kgN/ha): [biomasa acumulada (kgMS/ha) x %N] / 100. El %N es (%PB / 6.25).

ciclo el %PB fue similar para ambos tratamientos (Figuras 15 y 22). El aumento del N absorbido a través de las fechas en el ciclo inicial fue mayor en los tratamientos fertilizados debido a un incremento más acelerado de la biomasa (Cuadro 36) y a un mayor %N en la materia seca (Cuadro 6). Esto determinó una mayor diferencia en N disponible entre series de corte en los rebrotes y una caída más pronunciada en el %PB a través de las fechas. A su vez, la mayor reducción en el %PB en los tratamientos fertilizados podría deberse a un incremento más acelerado en la proporción de vainas (Wilson, 1982).

5.2.2. Carbohidratos no estructurales solubles.

El nivel de carbohidratos en la planta guarda una estrecha relación con la tasa de crecimiento (Blaser, 1964; Brown y Blaser, 1965 y 1970), con las condiciones climáticas (Wulfes *et al.*, 1999) y con la proporción de hojas, tallos y vainas (Garza *et al.*, 1965; Wilson, 1982). En los párrafos siguientes se analizarán las variaciones que se presentaron en dichos factores y que pudieron interactuar causando efectos sinérgicos o contrapuestos sobre el porcentaje de carbohidratos solubles. Durante el ciclo inicial (otoño), la tasa de crecimiento aumentó a medida que transcurrieron las fechas (Cuadro 36). Si bien esto no modificó el %CNES ($P>0.10$, Cuadro 3), se puede observar que los períodos de mayores tasas de crecimiento y de biomasa (30/5 y 24/6) se correspondieron con los menores %CNES, producto de una mayor demanda para crecimiento y/o de una menor producción como consecuencia de una menor radiación (Cuadro 37).

Observando el Cuadro 37 surgen ciertos interrogantes, como por ejemplo en el tratamiento 0N, el forraje cosechado el 19/5 y el 26/5 presentó similar tasa de crecimiento pero el nivel de CNES fue superior durante la segunda fecha (29.9%) respecto de la primera (25.0%). Esto podría deberse a que la radiación fue levemente superior durante el 26/5 (Cuadro 37). Similar es el caso del forraje correspondiente al 30/5 y el 17/6; durante el 17/6 la radiación y el porcentaje de vainas fueron superiores (Cuadro 37) lo cual podría explicar un mayor %CNES.

Cuadro 37. Porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles (%CNES), tasa de crecimiento (TC), radiación y porcentaje de vainas (%Vaina, Marino *et al.*, 2003; datos no publicados) en cada fecha de corte y nivel de nitrógeno aplicado (0N y 120N) durante el ciclo inicial de crecimiento de raigrás anual.

N (kg/ha)	Fecha de corte	%CNES	TC (kgMS/ha/d)	Radiación (Mj/m ² /d)	%Vaina
0	19/5	25.0	22.0	8.3	28.1
	26/5	29.9	22.1	9.0	24.5
	30/5	23.8	30.1	5.3	25.7
	17/6	27.8	30.6	7.2	29.8
	24/6	24.2	37.8	6.1	32.3
120	19/5	20.0	27.4	8.3	25.5
	26/5	19.6	36.1	9.0	25.9
	30/5	17.4	48.7	5.3	32.0
	17/6	20.5	44.7	7.2	29.3
	24/6	18.5	50.1	6.1	32.9

Durante un ciclo de crecimiento otoñal las diferencias en las tasas de crecimiento entre fechas de corte pueden ser, en términos relativos (%), tan altas como en otras épocas del año. Sin embargo, debido a un menor crecimiento, dichas diferencias resultan de menor magnitud en términos absolutos (kgMS/ha/d). De esta manera, en el ciclo otoñal, donde las diferencias en tasas de crecimiento entre fechas no fueron elevadas en términos absolutos, pequeñas variaciones en la radiación y/o en la proporción de vainas definen las diferencias en el %CNES. La tasa de crecimiento es una variable que resulta de todo un período de crecimiento mientras que el %CNES no sólo es consecuencia de dicho período sino también de las condiciones climáticas presentes durante el mismo día del muestreo. Por ello, es lógico que la relación entre ambas variables esté modulada también por condiciones ambientales del momento, principalmente en períodos donde las tasas de crecimiento entre fechas son similares.

Delagarde *et al.* (2000) observaron que el %CNES en la materia seca se incrementó durante el ciclo otoñal (9.8%⁵ a 12.7%⁶), mientras que en el presente trabajo de tesis el %CNES durante el otoño se mantuvo sin variaciones significativas (17.4% a 20.5% para

⁵ correspondiente a 118 grCNES/kgMO y 83% MO.

⁶ correspondiente a 148 grCNES/kgMO y 86% MO.

el tratamiento 120N). Las tasas de crecimiento fueron mayores y más diferentes entre fechas de corte en el trabajo de Delagarde *et al.* (2000) respecto del presente, lo cual podría haber contribuido a que se expresen diferencias en el %CNES entre fechas.

Durante el primer rebrote (inicio de invierno) las tasas de crecimiento fueron menores y más uniformes entre series respecto del ciclo otoñal (Cuadro 36), y no se evidenció ninguna relación aparente entre la fecha de corte y la tasa de crecimiento. Las tasas de crecimiento oscilaron entre 13 y 28 kgMS/ha/d y 30 y 35 kgMS/ha/d para 0N y 120N, respectivamente (Cuadro 36). El rango de variación entre tasas de diferentes cortes fue bajo, por lo cual, se podría esperar que dichas diferencias no tengan mayor impacto sobre el %CNES. Las condiciones climáticas tendrían un rol aun más importante que en el ciclo otoñal, en determinar diferencias en el %CNES entre fechas. Sin embargo, por ser un período poco favorable para la acumulación de CNES (baja radiación, mayor influencia de días nublados; Cuadro 1) esas diferencias tampoco logran expresarse.

Las menores tasas de crecimiento se presentaron en el segundo rebrote (invierno, Cuadro 36), donde la disponibilidad de N y las temperaturas para el crecimiento de cada serie fueron menores (Cuadro 1). Por ello, las escasas variaciones en cuanto a tasas de crecimiento entre fechas tuvieron un escaso impacto sobre el nivel de CNES. Durante el segundo rebrote la fecha tuvo un efecto positivo sobre el %CNES (Figura 20), posiblemente asociado a un efecto positivo de la radiación sobre el mismo. En la Figura 46 se presenta la relación entre el nivel de CNES y la radiación durante el día de muestreo (a) y la radiación acumulada durante los tres días previos al día de muestreo (b). El %CNES fue mayor durante los días donde la radiación fue mayor, excepto el 4/9 donde el nivel de CNES fue alto y la radiación fue baja (5.0 Mj/m²/d, Figura 46a), lo cual se debería a que durante los tres días previos al 4/9 la radiación fue alta (39.9 Mj/m², Figura 46b). Inversamente, la radiación durante el 21/8 fue elevada (12.5 Mj/m²/d, Figura 46a) por lo cual, a pesar de que la radiación acumulada en los tres días previos fue menor respecto de los restantes días de muestreo (Figura 46b), el %CNES fue relativamente alto.

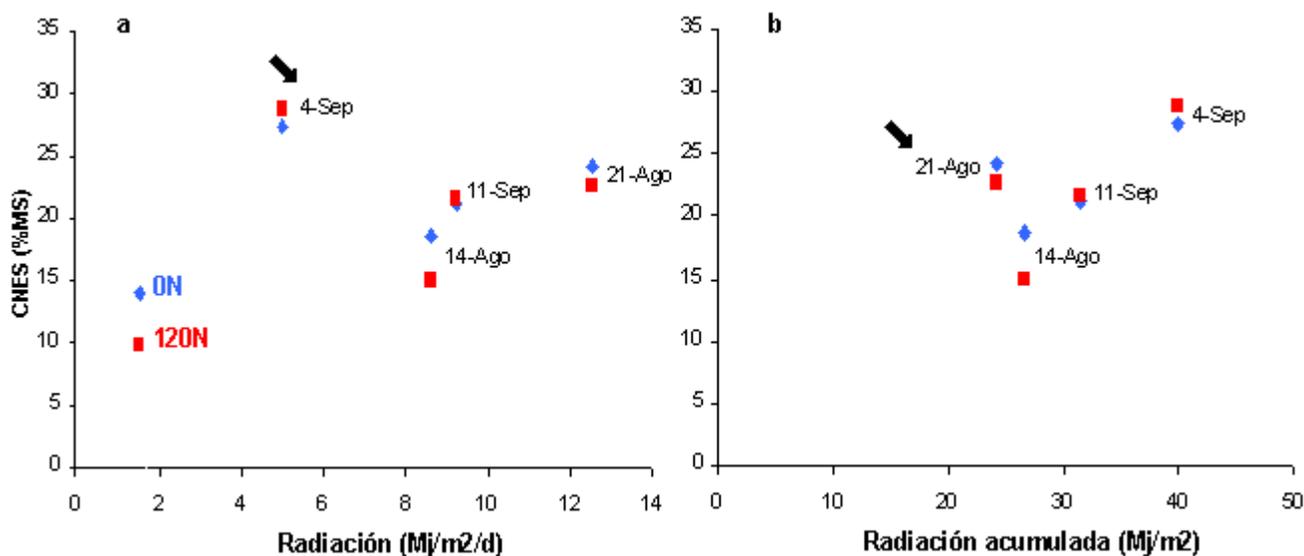


Figura 46. Efecto de la radiación durante el día de muestreo (a) y de la radiación acumulada durante los tres días previos al muestreo (b) sobre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles en el forraje de raigrás anual durante el segundo rebrote fertilizado con dos niveles de nitrógeno (0 y 120 kgN/ha).

Fulkerson *et al.* (1998) observaron un incremento en el %CNES durante los primeros 35 días de rebrote de 5% a 28% durante el ciclo de crecimiento invernal, pero hallaron escasos incrementos durante la primavera media e inexistentes durante la primavera tardía. Según los autores, las condiciones ambientales del invierno en un ambiente subtropical fueron ideales para la acumulación de carbohidratos (cielo despejado y mayor radiación que favorecen la fotosíntesis) mientras que durante la primavera, las mayores temperaturas y menor heliofanía no permitieron un incremento en el nivel de carbohidratos a medida que transcurrieron las fechas. Como se mencionó anteriormente, el %CNES mínimo fue 5% mientras que en el presente trabajo de tesis no se encontraron valores promedios del día inferiores a 15%, lo cual podría estar asociado a un menor tiempo de rebrote y probablemente a una menor biomasa acumulada en el trabajo de los mencionados autores.

En síntesis, durante ninguno de los tres ciclos evaluados las tasas de crecimiento fueron tan diferentes entre fechas como para que las diferencias en el %CNES se expliquen exclusivamente por diferencias en dichas tasas de crecimiento. Las mayores tasas de crecimiento se observaron en el ciclo otoñal, en el cual las mismas presentaron una relación negativa con el nivel de CNES aunque dicha relación estuvo modulada por las condiciones climáticas del momento. Durante el inicio del invierno (primer rebrote),

donde las tasas de crecimiento fueron menores y más uniformes entre fechas, no se evidenció relación entre las mismas y el nivel de CNES. Las condiciones climáticas tampoco tuvieron un efecto marcado debido a que fue un período particularmente nublado y de baja radiación. Durante el invierno (segundo rebrote) se presentaron las menores tasas de crecimiento y, conforme a ello, no se observó una relación entre éstas y el %CNES. En este ciclo de crecimiento, donde las condiciones radiativas fueron más favorables para la acumulación de CNES, las mismas tuvieron un rol importante en la definición de las variaciones en el %CNES a través de las fechas. Estos resultados indican que durante el otoño e invierno, donde no existen grandes diferencias en tasa de crecimiento entre fechas, las diferencias en condiciones climáticas serán las que definan el %CNES del forraje.

5.2.3. Materia Seca.

Según la literatura, a medida que la biomasa acumulada y la proporción de tejido estructural se incrementan, el %MS en el forraje aumenta (Wilman, 1970; Wilman, 1975a). Esto pareciera contradecir los resultados observados en el ciclo otoñal ya que la biomasa acumulada fue aumentando a través de las fechas (Cuadro 36) mientras que el %MS se mantuvo sin variaciones significativas (Cuadro 3). Esta falta de efecto de la fecha de corte, y por consiguiente de la biomasa acumulada sobre el %MS en el ciclo otoñal coincide con lo observado para el %PB. Como se mencionara en el capítulo de revisión, el %PB presenta una relación positiva y el %MS una relación negativa con la proporción de contenido celular (Wilman *et al.*, 1976b; Wilman *et al.*, 1977; Wilman y Wright, 1978b; Wilman y Altimimi, 1984). Probablemente esto último se debería a que dentro de la célula, el agua se encuentra contenida principalmente en la vacuola y en el citoplasma, las cuales forman parte del contenido celular. Asimismo, Mattos (2002) observó que existe una estrecha relación entre las proteínas y el agua, dado que esta última juega un rol fundamental en la estabilidad de la estructura secundaria y terciaria de las mismas. De esta manera, a medida que avanzaron las fechas y el %PB en el forraje se mantuvo invariable, es probable que la proporción de contenido celular, FDN y agua (%MS) del forraje se hayan mantenido constantes. Así, el elevado %PB durante el ciclo otoñal podría haber compensado el posible efecto positivo de un aumento de biomasa sobre el %MS. Además, el porcentaje de hojas fue elevado y no se modificó (Figura 44) con el aumento

progresivo en la biomasa acumulada, lo cual podría haber contribuido a mantener bajo y relativamente invariable el %MS durante el mencionado ciclo.

Durante el primer y segundo rebrotes, a pesar de que la biomasa acumulada no aumentó a través de las fechas (Cuadro 36), el %MS se incrementó (Cuadros 8 y 12) como consecuencia de disminuciones en el %PB. El incremento en el %MS durante el primer rebrote se manifiesta hacia el final del ciclo (Cuadro 8), mientras que en las tres primeras fechas de corte el %MS se mantiene similar al del ciclo inicial y prácticamente invariable. En función de ello es válido plantear por qué una disminución significativa en el %PB entre las tres primeras fechas de corte del primer rebrote (Cuadro 10) no fue acompañada por aumentos significativos en el %MS. Esto queda reflejado en una menor asociación entre el %MS y el %PB durante el primer rebrote ($r = -0.51$) respecto del ciclo inicial ($r = -0.69$) y segundo rebrote ($r = -0.88$). La mayor humedad relativa tanto durante el día de muestreo (Cuadro 1) como durante los días previos⁷ podrían haber disminuido la pérdida de agua, atenuando el efecto positivo de un menor %PB sobre el %MS. Esta menor pérdida de agua involucraría principalmente al agua interna, ya que la presencia de agua externa fue disminuida durante el muestreo mediante agitación manual.

Durante el segundo rebrote, la complementariedad entre las curvas de PB y MS es notable. En las Figuras 18 y 22 se puede observar cómo el aumento en el %MS durante el segundo rebrote fue acompañado por una disminución en el %PB.

El efecto positivo de la fecha de corte sobre el %MS en el primer y segundo rebrotes fue mayor en los tratamientos fertilizados respecto de los no fertilizados (Figura 29) lo cual es coherente con el hecho de que la disminución en el %PB a través de las fechas de corte haya sido mayor en el primer tipo de tratamientos (Figura 34). Así, al final de cada rebrote tanto el %PB como el %MS fue prácticamente el mismo para ambos niveles de fertilización.

⁷ HR promedio de los tres días previos al muestreo: 81%, 92%, 84% y 68% para las fechas, 1, 2, 3 y 4, respectivamente.

5.3. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre la composición química del forraje.

5.3.1. Proteína Bruta.

La fertilización nitrogenada resultó en un aumento en el %PB del forraje y en la biomasa acumulada (Cuadro 36). Esto indica que al fertilizar, la absorción de N por parte de la planta supera al efecto dilución que ejercería el aumento de biomasa sobre el %PB. El efecto de la fertilización disminuyó a medida que transcurrieron los ciclos de crecimiento (Figura 35) debido a una disminución más pronunciada en el N disponible y posiblemente a un incremento más acelerado en la proporción de vainas (con menor %PB) en los tratamientos fertilizados (Wilson, 1982).

5.3.2. Carbohidratos no estructurales solubles.

La fertilización nitrogenada aumentó la tasa de crecimiento del forraje (Cuadro 36), lo cual se tradujo en una reducción en el %CNES durante el ciclo inicial y primer rebrote (Cuadros 5 y 9). Esto indicaría que ante aplicaciones de N, el crecimiento en un ciclo otoñal y en inicios de invierno (primer rebrote) sería más afectado que la fotosíntesis, por lo cual la demanda de CNES superaría la producción de CNES, determinando una reducción significativa en el %CNES en la planta. El efecto de la fertilización fue mayor en el ciclo otoñal respecto del primer rebrote. Durante el segundo rebrote el %CNES no fue afectado por el nivel de fertilización ($P > 0.10$, Cuadro 11), por lo cual se podría inferir que el crecimiento y la fotosíntesis fueron afectados de manera similar. Este efecto diferencial del N sobre la fotosíntesis y el crecimiento según el ciclo podría deberse a las siguientes causas. El contenido de CNES en la planta depende de la cantidad que se produce por fotosíntesis y de la cantidad que demanda el crecimiento. La diferencia en tasas de crecimiento promedio entre niveles de N fue la misma en los tres ciclos (Cuadro 36). Por lo tanto la menor diferencia en %CNES entre niveles de N a través de los ciclos no estaría vinculada a diferencias en la demanda de CNES. Gastal y Bélanger (1993) observaron que la tasa de fotosíntesis se redujo a medida que disminuyó la concentración de N en la planta y que dicho efecto fue mayor cuanto menor fue el contenido de N en planta. Este efecto negativo sería mayor en períodos donde el nivel de N es menor, como por ejemplo el primer rebrote y fundamentalmente el segundo rebrote. En períodos donde la cantidad

de N en planta es alta, como el ciclo de crecimiento inicial, dicho efecto sería de menor magnitud. Cuando el N disponible es deficiente, la aplicación de cantidades moderadas de N puede aumentar el crecimiento debido a incrementos en el área foliar, proteínas del cloroplasto y contenido de clorofila lo cual aumenta la fotosíntesis y consecuentemente los carbohidratos de reserva (White, 1973). Durante el primer y segundo rebrotes, la diferencia en %PB entre niveles de N fue menor a la observada en el ciclo inicial, aunque por tratarse de períodos de baja disponibilidad de N, su efecto sobre la fotosíntesis podría ser mayor, generando mayores diferencias en la capacidad de producción de CNES. Así, mientras las diferencias en demanda de CNES (crecimiento) entre tratamientos se mantienen constantes a través de los ciclos, las diferencias en cuanto a capacidad de producción de CNES aumentarían a favor de los tratamientos fertilizados, reduciendo las diferencias en %CNES. A su vez, la posibilidad de un incremento más acelerado en la proporción de vainas en los tratamientos fertilizados podría contribuir a reducir las diferencias en el %CNES.

5.3.3. Materia Seca.

En los tres ciclos evaluados, la fertilización resultó en una disminución en el %MS del forraje y en un aumento en la biomasa acumulada (Cuadro 36). Esto indica que al fertilizar, el mayor %PB y posiblemente la mayor proporción de contenido celular y agua, superan al efecto positivo que ejercería el aumento de biomasa sobre el %MS. El menor %MS en los tratamientos fertilizados también podría estar asociado a un aumento en la tasa de crecimiento (Cuadro 36). En gran medida, el crecimiento es consecuencia de la expansión celular y por lo tanto de la incorporación de agua a la célula. De esta manera, un forraje que crece a mayor tasa que otro presentaría un tejido más succulento, con mayor contenido de agua y menor %MS.

Durante el ciclo otoñal, el efecto de la fertilización fue independiente de la fecha de corte, indicando que la posible restricción al consumo impuesta por un bajo %MS sería aun más marcada con fertilización y que esto se mantendría constante durante todo el ciclo otoñal, a pesar de un incremento más acelerado de la biomasa en los tratamientos fertilizados (Cuadro 36). Durante el primer y segundo rebrote, la diferencia en %MS entre niveles de N disminuyó a través de las fechas.

El efecto positivo de un mayor contenido de materia seca sobre el consumo es mayor cuando el %MS del forraje es inferior a 16-18% (Vérité y Journet, 1970; Cabrera Estrada *et al.*, 2004). La diferencia en cuanto al %MS entre 0N y 120N fue de 1.7 unidades porcentuales en los tres ciclos. Sin embargo, durante el ciclo inicial, donde el %MS fue significativamente menor respecto de los rebrotes y se encontró por debajo del mencionado límite, dicha diferencia atribuida a la fertilización podría tener un mayor impacto sobre el consumo. Holmes y Lang (1963) observaron que una diferencia de 2.6 unidades porcentuales en el %MS entre dos niveles de fertilización tuvo impacto sobre el consumo cuando el %MS en los tratamientos más fertilizados fue inferior a 18.0%. Por encima de 18.0%, la misma diferencia no provocó cambios significativos en el consumo de los animales. Esto implica que la decisión de no fertilizar incrementaría el consumo de los animales principalmente en el otoño. Sin embargo, la falta de fertilización no garantiza un consumo sin restricciones si el %MS en los tratamientos no fertilizados durante el otoño es inferior a 16-18% (Cuadro 4), a la vez que resulta en una disminución en la producción de biomasa por hectárea. La biomasa de hojas por unidad de superficie es un factor determinante del consumo en pastoreo y un aumento de la misma conlleva un aumento en el consumo de materia orgánica cuando la biomasa de hojas es inferior a 2000 kgMO/ha (Peyraud y Astigarraga, 1998). Por lo cual, en períodos como los rebrotes, donde la biomasa fue inferior al mencionado límite, la fertilización nitrogenada resultaría en un aumento en la biomasa de hojas y eventualmente en un aumento de consumo. Además, en el segundo rebrote, la disminución en el %MS provocada por la fertilización no sería problemática desde el punto de vista del consumo (Cuadro 12). Asimismo, a estas ventajas se podría sumar el efecto positivo de un mayor %PB en un período como el segundo rebrote, donde el contenido de PB del forraje (Cuadro 14) podría ser una limitante tanto para el animal como para la actividad microbiana. Delagarde *et al.* (1997) observaron una menor concentración de NH₃ en rumen y una reducción en la actividad celulolítica en animales alimentados con un forraje menos fertilizado (10.6% de PB) respecto de aquellos alimentados con forraje más fertilizado (17.3% de PB). En dicho trabajo, la asignación de forraje (kgMO/an/d) fue la misma en ambos tipos de tratamientos. Sin embargo, el consumo de materia orgánica, la producción de leche, proteína y grasa por día fueron mayores en los animales alimentados con el forraje más fertilizado. Estos resultados se observaron durante la primavera, donde el %MS en los

tratamientos fertilizados fue superior a 16% y donde el %PB y la biomasa de hojas en los tratamientos no fertilizados fue de 10.6% y menor a 2000 kgMO/ha, respectivamente.

5.4. Efecto de la *hora del día* sobre la composición química del forraje.

5.4.1. Proteína Bruta.

El %PB disminuyó durante el día debido a un efecto de dilución dentro de la materia seca como consecuencia del incremento en la cantidad de CNES (Youngberg *et al.*, 1972; Delagarde *et al.*, 2000; Trevaskis *et al.*, 2004). La magnitud de la disminución en el %PB entre las 8h y las 18h fue la misma en el ciclo inicial y primer rebrote (2.2 unidades) y menor durante el segundo rebrote (0.9 unidades, Figura 26). El efecto negativo de la hora sobre el contenido de PB fue menor durante el ciclo de crecimiento en el cual el %PB del forraje fue sensiblemente bajo (21.6%, 17.5% y 12.4% para el ciclo inicial, primer y segundo rebrotos, respectivamente; Cuadro 19). La diferencia en %PB entre el ciclo inicial y el primer rebrote no fue suficiente para expresar diferencias en la magnitud de la reducción en el día ya que a pesar de ser menor, el %PB durante el primer rebrote no fue bajo, aun para los tratamientos 0N (15.5%, Cuadro 10). Cuando el %PB cayó a 12.4% en el segundo rebrote, los cambios diurnos fueron de menor magnitud. Delagarde *et al.* (2000) observaron que la variación diaria en el %PB de raigrás perenne fue mayor en primavera respecto del otoño, a pesar de que en primavera el %PB fue menor (13.2%⁸ y 19.6%⁹ para primavera y otoño, respectivamente). Esta aparente contradicción podría deberse a que durante la primavera las condiciones ambientales y climáticas durante el día (mayor radiación y fotoperíodo, menor influencia de nubosidad) fueron propicias para una mayor variación en el contenido de PB a pesar de un menor %PB en el forraje. Las condiciones climáticas y ambientales durante los ciclos de crecimiento evaluados en el presente trabajo (otoño e invierno) fueron menos contrastantes y a su vez quizás menos favorables para la manifestación de grandes variaciones en la composición química durante el día (baja radiación, días cortos y alta nubosidad). En esta situación, un mayor %PB en el ciclo inicial y primer rebrote respecto del segundo rebrote, podría haber contribuido a una disminución más pronunciada a través de las horas.

⁸ correspondiente a 153 grPB/kgMO y 86% MO.

⁹ correspondiente a 232 grPB/kg MO y 84% MO.

Dentro de cada ciclo de crecimiento, la variación diaria en el %PB fue la misma con los dos niveles de N aplicado lo cual indica que dentro del mismo ciclo, un mayor %PB en los tratamientos fertilizados no se reflejó en una mayor reducción durante el día.

La disminución diaria en el %PB durante el otoño fue mayor en el presente ensayo (2.2 unidades porcentuales) respecto de la observada por Delagarde *et al.* (2000; 0.4 unidades). Las condiciones de radiación fueron muy similares entre ensayos (7-8 Mj/m²/d), lo mismo que el rango horario considerado (8h y 18h) y que el nivel de fertilización. La diferencia podría estar vinculada a una mayor proporción de vainas y/o tallos en la experiencia de Delagarde *et al.* (2000) asociada a una mayor biomasa acumulada (4465 kgMS/ha) respecto del presente ensayo (2474 kgMS/ha). Delagarde *et al.* (2000) observaron que los cambios diarios en la composición química son mayores en los estratos superiores o más foliosos de la pastura respecto de los inferiores, donde la presencia de tallos y vainas es superior. Una posible mayor proporción de hojas en el presente ensayo, asociada a una menor biomasa acumulada, podría haber contribuido a la manifestación de mayores cambios en la concentración de PB durante el día.

Sólo durante el otoño, los cambios a través de las horas variaron en función de la fecha de corte (Figura 10) aparentando mantener una tendencia de disminución más definida al inicio del ciclo de crecimiento, donde los aumentos en el %MS y %CNES también fueron de mayor magnitud (Figuras 7 y 9). Esto indicaría que en las fechas donde el aumento en el %CNES y %MS fue mayor (19/5 y 26/5) el efecto de dilución sobre el %PB fue mayor.

5.4.2. Carbohidratos no estructurales solubles.

El %CNES aumentó durante el día debido a un balance positivo entre la cantidad que se produce por fotosíntesis y la que se consume por respiración (Lechtenberg *et al.*, 1972; Reeves *et al.*, 1996; Delagarde *et al.*, 2000; Trevaskis *et al.*, 2004). El efecto del transcurso del día sobre el %CNES es positivo, por lo cual, la posibilidad de que dicho componente aumente con mayor intensidad durante el día podría ser mayor en períodos de alta radiación y/o en forrajes con un bajo %CNES. Sin embargo, dicho incremento fue el mismo en los tres ciclos de crecimiento evaluados (3.3 unidades porcentuales; Figura 25), lo cual es coherente con el hecho de que las condiciones ambientales no fueron muy

contrastantes entre ciclos y que el %CNES no fue muy diferente entre ciclos (Cuadro 18). Reeves *et al.* (1996) y Delagarde *et al.* (2000) tampoco observaron una interacción significativa entre la hora del día y el ciclo de crecimiento (primavera, verano y otoño en ambos trabajos). La variación diaria observada en el presente trabajo (3.3 unidades) fue superior a la hallada por Delagarde *et al.* (2000, 2.4 unidades) lo cual podría estar asociado a una mayor proporción de hojas en el presente ensayo, generando mayores cambios en el %CNES durante el día.

Dentro de cada ciclo de crecimiento, la variación diurna en el %CNES fue la misma con los dos niveles de N aplicado, indicando que dentro del mismo ciclo, un menor contenido de CNES en el forraje fertilizado no se reflejó en un mayor aumento durante el día. Lechtenberg *et al.* (1972) no observaron una interacción significativa entre el patrón de variación diurna y el nivel de N aplicado (0 y 140 kgN/ha).

Durante el ciclo de crecimiento inicial y el segundo rebrote, los cambios a través de las horas variaron en función de la fecha de corte (Figuras 9 y 21) aparentando mantener una tendencia de aumento más definida y de mayor magnitud al inicio de cada ciclo de crecimiento. Este comportamiento fue coincidente con el hecho de que durante esos días (19/5, 26/5, 14/8 y 21/8) tanto la radiación del día como la heliofanía efectiva fueron mayores que en el resto de las fechas (Cuadro 1). Durante el primer rebrote por tratarse de un período con condiciones uniformes de baja radiación y heliofanía, no se observó una interacción entre la hora del día y la fecha de corte. Estos resultados indicarían que los días de mayor radiación resultan en un mayor incremento en el %CNES durante el día. El rango de variación fue mayor durante el segundo rebrote (Figura 21) respecto del ciclo inicial (Figura 9), lo cual coincide con una mayor variación en la heliofanía y radiación (Cuadro 1). Una mayor variación en la radiación durante el segundo rebrote es coherente con el hecho de que a medida que avanzan los días la radiación va aumentando (Figura 3 y *Radiación del período* en Cuadro 1), lo cual aumenta las diferencias en radiación entre un día nublado y uno soleado y por ende, las diferencias en la magnitud del cambio diario entre un día y otro. La variación durante el día fue mayor para el caso del %CNES respecto del %PB, lo cual coincide con lo informado en la bibliografía.

5.4.3. Materia Seca.

El %MS aumentó durante el día, lo cual es consecuencia de la pérdida de agua superficial o externa por evaporación y de la pérdida de agua interna debido al balance negativo entre la cantidad de agua que la planta gana por absorción y la que pierde por transpiración (van Vuuren *et al.*, 1986; Ciavarella *et al.*, 2000a). La magnitud del aumento en el %MS entre las 8h y las 18h fue el mismo en los tres ciclos de crecimiento evaluados (2.3 unidades porcentuales; Figura 24). Dicho incremento tendría un mayor efecto sobre el consumo animal durante el ciclo inicial, donde el %MS es inferior al límite de 16-18%, por debajo del cual un incremento en el tenor de materia seca provocaría aumentos de mayor magnitud en el consumo (Vérité y Journet, 1970; Cabrera Estrada *et al.*, 2004). Así, los posibles beneficios de un pastoreo de tarde respecto del de mañana para lograr un mayor %MS serían mayores durante un ciclo otoñal. Delagarde *et al.* (2000) observaron que la variación diurna en el %MS fue mayor durante la primavera (4.4 unidades) respecto del otoño (1.9 unidades) mientras que en este ensayo la variación observada fue la misma para los tres ciclos evaluados (2.3 unidades), debido a que el contraste en las condiciones ambientales entre ciclos fue mayor en el trabajo de Delagarde *et al.* (2000). El aumento diurno observado en el presente ensayo fue inferior al informado por Ciavarella *et al.* (2000a) para *Phalaris acuatika* a la salida del invierno (4.0 unidades porcentuales). Las diferencias entre ensayos podrían deberse a una menor radiación en el presente trabajo (7.6 Mj/m²/d) respecto del período abarcado por los mencionados autores (14.8 Mj/m²/d). El aumento en el %MS en raigrás perenne observado por Delagarde *et al.* (2000) durante el otoño (1.9 unidades porcentuales) fue similar al observado en el presente trabajo (2.3 unidades).

En el ciclo otoñal el aumento en el %MS durante el día fue mayor en los tratamientos que no recibieron fertilización respecto de los fertilizados (Figura 8). Aun así, recién a las 18h los tratamientos sin fertilización alcanzaron un %MS (16.8%) cercano al límite antes mencionado (16-18%). Esto indicaría que durante la mayor parte del día en el caso de los tratamientos sin fertilización y durante la totalidad del día en los tratamientos fertilizados, el consumo de los animales se podría ver restringido por un escaso %MS.

Durante los tres ciclos de crecimiento evaluados, el aumento en el %MS a través de las horas varió en función de la fecha de corte (Figuras 7, 13 y 19). En el ciclo inicial y el

segundo rebrote, dicho incremento fue mayor durante los días donde tanto la radiación como la heliofanía efectiva fueron mayores que en el resto de las fechas (19/5, 26/5, 17/6, 14/8 y 21/8; Cuadro 1). Desde el punto de vista del consumo del animal, el efecto positivo de días con alta radiación y heliofanía sobre el %MS sería más importante en el ciclo otoñal respecto del segundo rebrote, donde el %MS se mantiene por debajo de 16-18% (entre 14.4% y 16.9% para 0N y 13.4% y 14.3% para 120N, Figura 29). Durante el primer rebrote por tratarse de un período con condiciones uniformes de baja radiación y heliofanía, no se observó una relación entre éstas y la magnitud del cambio diario en el %MS. Los días donde dicho cambio fue mayor (2/7 y 22/7) se registraron temperaturas mínimas bajo cero, por lo cual, la ocurrencia de heladas podría haber contribuido a una mayor pérdida de agua durante el día.

El ciclo de crecimiento otoñal fue el único donde se observó una interacción significativa entre la fecha de corte y la hora del día para las tres variables analizadas (%MS, %CNES y %PB). Los días donde el aumento en el %CNES fue mayor (19/5 y 26/5) también fueron los días donde el aumento en el %MS y la disminución en el %PB fueron elevados. Los mayores cambios diarios en el %MS y %CNES estuvieron asociados a días de alta radiación y heliofanía, determinando un mayor cambio pasivo o efecto de dilución en el %PB.

Los resultados encontrados indican que por la tarde, el forraje presenta un mayor %MS y %CNES y un menor %PB respecto de la mañana, lo cual resultaría en una disminución en las pérdidas de N por parte del animal, debido a una mayor eficiencia de utilización del N y/o un menor consumo de N (Miller *et al.*, 2001; Rearte, 2005). Sin embargo, los beneficios sobre la producción pueden ser variables. Aparentemente, las ventajas del pastoreo de tarde dependen del nivel de PB alcanzado en dicho momento del día, lo cual depende, entre otros, del período o estación del año. Rearte *et al.* (2003, citado por Rearte, 2005) observaron que el consumo de materia seca y la producción de leche no fueron afectados por el nivel de CNES del forraje (cosechado por la mañana o por la tarde) debido a una insuficiente concentración de NH₃ en rumen generada por un bajo %PB en el forraje cosechado por la tarde (10-12%). La mayor ingestión de CNES en los animales alimentados con forraje de tarde fue compensada por una menor digestión de la fibra debido a una menor actividad de la flora celulolítica, manteniendo constante la cantidad de MO fermentada. La mínima concentración de NH₃ requerida para maximizar

la digestión depende del sustrato y es función de la fermentabilidad de la dieta (Rearte, 2005). Así, el forraje de buena calidad, con un contenido de fibra altamente digestible, soportaría un mayor crecimiento de bacterias celulolíticas las cuales requieren una concentración mínima de NH_3 mayor para optimizar la fermentación (Rearte, 2005). Por el contrario, Orr *et al.* (2001) y Trevaskis *et al.* (2004) observaron que los animales que tuvieron acceso a una nueva parcela por la tarde presentaron un consumo similar y una ganancia de peso y una producción de leche y proteína por día mayor respecto de los animales con acceso matutino. En ambos trabajos, el %PB del forraje por la tarde, si bien inferior al de la mañana, fue superior a 20%. Estos resultados indican que los beneficios del pastoreo de tarde serían mayores durante el otoño respecto del invierno porque el aumento en el %MS tendría un mayor impacto sobre el consumo y porque durante la tarde, si bien el %PB sería menor al de la mañana, el mismo sería suficiente para alcanzar una adecuada concentración de NH_3 en rumen para una óptima fermentación de la fibra del forraje. En períodos como el segundo rebrote, donde el %MS deja de ser una limitante para el consumo y el %PB es bajo (12.4%, Cuadro 19), el pastoreo de tarde podría no modificar la producción o incluso disminuirla en el caso de que la digestión de la fibra se vea sensiblemente reducida por una insuficiente concentración de NH_3 en el rumen.

5.5. Efecto del *ciclo de crecimiento* sobre la composición química del forraje.

5.5.1. Proteína Bruta.

El %PB fue disminuyendo a medida que avanzaron los ciclos de crecimiento (Cuadro 19), lo cual está de acuerdo con los resultados de la bibliografía, si bien la mayoría de los trabajos revisados comparan ciclos de crecimiento más contrastantes (otoño y primavera) y con fertilizaciones al inicio de cada ciclo de crecimiento. A medida que la biomasa acumulada y la proporción de tejido estructural aumentan, el %PB en la MS disminuye. Esto pareciera contradecir los resultados de este trabajo dado que tanto la biomasa acumulada como el %PB fueron mayores en el ciclo inicial respecto de los rebotes. Esto estaría asociado a la mayor disponibilidad de N proveniente del fertilizante y del suelo en el otoño. A medida que transcurrieron los rebotes, la cantidad de N disponible para el

crecimiento fue menor, debido a la ausencia de nuevas fertilizaciones y, posiblemente, a una mineralización progresivamente menor.

5.5.2. Carbohidratos no estructurales solubles.

Las tasas de crecimiento fueron disminuyendo de ciclo en ciclo debido a una disminución progresiva en la temperatura (Cuadro 1) y en la cantidad de N disponible. La variación en el nivel de carbohidratos entre ciclos fue diferente según el nivel de fertilización aplicado. En la Figura 31 se observa que el %CNES se redujo entre el ciclo inicial y el primer rebrote, siendo mayor la reducción en el caso de los tratamientos que no recibieron fertilización. La primera pregunta que surge ante estos resultados es por qué el %CNES fue menor durante el primer rebrote, siendo que las tasas de crecimiento y por lo tanto la demanda de CNES fueron menores respecto del ciclo inicial. Este resultado podría estar asociado a una menor radiación tanto durante los días de muestreo como durante el período de crecimiento de cada serie de corte (Cuadro 1). A su vez, si se considera que la temperatura óptima para fotosíntesis en pastos templados se encuentra entre los 20 y 25 °C (White, 1973), las bajas temperaturas registradas durante tres de los cuatro días de muestreo del primer rebrote (3.4°C a 4.6 °C, Cuadro 1) podrían haber afectado también la tasa de fotosíntesis. De esta manera, a pesar de que la tasa de crecimiento fue menor durante el primer rebrote, la acumulación de CNES se redujo debido a la menor radiación y bajas temperaturas.

La segunda pregunta que surge es por qué la reducción en el %CNES entre el ciclo inicial y el primer rebrote fue mayor en los tratamientos que no recibieron fertilización (4.0 unidades porcentuales, Figura 31) respecto de los fertilizados (2.0 unidades). Esto estaría asociado a que entre el ciclo inicial y primer rebrote la demanda de CNES (tasa de crecimiento, Cuadro 36) disminuyó con la misma intensidad para los dos tratamientos, mientras que la capacidad de producción de CNES habría caído más marcadamente en los tratamientos no fertilizados. A su vez, la posibilidad de un incremento más acelerado en la proporción de vainas entre el ciclo inicial y primer rebrote en los tratamientos fertilizados podría contribuir a una menor caída en el %CNES. Los motivos de estas diferencias fueron comentados en el punto 5.3.2 (*Efecto de la fertilización nitrogenada sobre el %CNES*).

Entre el primer y segundo rebrote, la radiación aumentó (Cuadro 1) y las tasas de crecimiento disminuyeron, tanto para 0N como para 120N (Cuadro 36). Esto se reflejó en un aumento en el %CNES en el caso de los tratamientos fertilizados, mientras que en los tratamientos no fertilizados, el %CNES se mantuvo constante (Figura 31). Este efecto diferencial estaría asociado a las mismas condiciones mencionadas en el párrafo anterior. De esta manera, los tratamientos 0N presentaron el mayor %CNES en el ciclo inicial, donde si bien las tasas de crecimiento fueron mayores respecto del primer y segundo rebrotes, también fue mayor la capacidad de producción de CNES. Esto, acompañado por condiciones de buena radiación, resultó en el mejor balance entre los CNES producidos por fotosíntesis y los demandados para crecimiento. Los tratamientos 120N presentaron el mayor %CNES en el segundo rebrote, donde la capacidad de producción de CNES, aunque menor que en los otros ciclos, permitió que una baja tasa de crecimiento y una buena radiación se traduzcan en un alto %CNES.

Los niveles de CNES hallados en el presente trabajo en general fueron algo superiores a los encontrados en la bibliografía debido a distinta metodología durante el procesamiento de las muestras (utilización de N líquido durante el muestreo, método de secado de las muestras), diferentes tasas de crecimiento, niveles de fertilización, horario de muestreo, condiciones ambientales y/o especies. Delagarde *et al.* (2000) observaron un nivel de CNES de 10.7%¹⁰ durante el otoño en el forraje de raigrás perenne fertilizado con 120 kgN/ha, el cual es inferior al observado en el presente trabajo (19.2%, Figura 31). Esto podría estar asociado a mayores tasas de crecimiento y a un menor tiempo de rebrote¹¹ en el trabajo de los mencionados autores, dado que las condiciones experimentales fueron similares entre ensayos. Boudon y Peyraud (2001) observaron que el %CNES en el forraje de raigrás perenne durante el otoño osciló entre 12.9% y 15.7%. El mayor valor observado en el presente ensayo (19.2%) podría atribuirse a una biomasa superior y probablemente a una mayor proporción de vainas.

¹⁰ correspondiente a 127 grCNES/kgMO y 84% MO.

¹¹ Delagarde *et al.* (2000): tiempo máximo de rebrote 35 días. Presente trabajo: tiempo mínimo de rebrote: 41 días (Cuadro 36).

5.5.3. Materia Seca.

El %MS aumentó a medida que avanzaron los ciclos de crecimiento (Cuadro 17), lo cual está de acuerdo con los resultados de la bibliografía, si bien, como se mencionara anteriormente, la mayoría de los trabajos revisados comparan ciclos de crecimiento más contrastantes (otoño y primavera).

Según la literatura, a medida que la biomasa acumulada se incrementa también aumenta el %MS en el forraje. Sin embargo, en este trabajo se observó que la biomasa acumulada disminuyó de ciclo en ciclo (Cuadro 36) mientras que el %MS aumentó. Estos resultados podrían estar asociados a una disminución en el %PB en el forraje a través de los ciclos de crecimiento. Los motivos de la asociación negativa entre %MS y %PB fueron comentados en el punto 5.2.3 (*Efecto de la fecha de corte sobre el %MS*). De esta manera, una reducción en el %PB de ciclo en ciclo, probablemente haya sido acompañada por una disminución en la proporción de contenido celular y agua del forraje, lo cual resultó en un aumento en el %MS. Así, una disminución en el %PB podría haber compensado el efecto negativo de una reducción de biomasa sobre el %MS. Delagarde *et al.* (2000) y Boudon y Peyraud (2001) observaron que el %MS en el forraje de raigrás perenne fue mayor en los ciclos donde el %PB fue menor.

El aumento en el %MS a través de los ciclos también podría estar asociado a una disminución en las tasas de crecimiento, lo cual resultaría en un tejido menos succulento y con un menor contenido de agua. Así, durante los ciclos donde las tasas de crecimiento fueron menores, el forraje presentó un mayor %MS. Wilman y Wright (1978a, 1978b) observaron que a medida que aumentaron las tasas de crecimiento, la proporción de contenido celular aumentó y que el %MS disminuyó, a pesar de que las mayores tasas de crecimiento se correspondieron con mayores biomásas acumuladas. Delagarde *et al.* (2000) observaron que a medida que aumentó el tiempo de rebrote la tasa de crecimiento de raigrás perenne se redujo y el %MS se incrementó. Sin embargo, durante la primavera las tasas de crecimiento fueron superiores respecto de las de otoño y a pesar de ello, el %MS fue mayor. Esto estaría asociado a un menor %PB durante la primavera respecto del otoño.

Durante el ciclo otoñal, el %MS en el forraje fertilizado fue 13.9% (Cuadro 4), el cual es algo inferior al observado por Delagarde *et al.* (2000) y por Boudon y Peyraud (2001) en raigrás perenne (16.0% y 16.3%, respectivamente) durante el mismo ciclo y con niveles de fertilización similares. Las diferencias estarían asociadas a diferencias en cuanto al %PB entre ensayos, siendo mayor en el presente ensayo de tesis (25.3%, Cuadro 6) respecto de los trabajos de los mencionados autores (19.6%⁹ y 21.6% de PB para Delagarde *et al.* (2000) y Boudon y Peyraud (2001), respectivamente).

La magnitud del aumento en el %MS a medida que transcurrieron los ciclos fue la misma para ambos niveles de fertilización, a pesar de que la disminución en el %PB fue mayor para los tratamientos fertilizados. El aumento en el %MS fue mayor entre el primer y segundo rebrote (5.7 unidades porcentuales, Cuadro 17) respecto del observado entre el ciclo inicial y el primer rebrote (1.4 unidades porcentuales), lo cual es coherente con el hecho de que entre el primer y segundo rebrote la disminución en el %PB haya sido mayor a la observada entre el ciclo inicial y el primer rebrote (Cuadro 19).

Según los resultados observados y la bibliografía revisada, a medida que la biomasa y/o la proporción de tallos y vainas se incrementan o la tasa de crecimiento disminuye, el %MS aumenta. Sin embargo, existen situaciones donde estas asociaciones no se cumplen, como por ejemplo el aumento de biomasa y la disminución en el %MS en los trabajos de Wilman y Wright (1978a, 1978b) o el aumento de biomasa y la falta de variación en el %MS durante el ciclo otoñal del presente ensayo. Estas aparentes contradicciones se explican cuando las diferencias en %MS se asocian a diferencias en la proporción de contenido celular y estas últimas a diferencias en %PB. A su vez, la asociación negativa entre el %MS y el %PB puede ser modificada por factores ambientales, tal es el caso observado durante las primeras tres fechas de corte del primer rebrote, donde a pesar de reducciones significativas en el %PB, el %MS se mantuvo invariable debido, probablemente, a la influencia de una alta humedad relativa (punto 5.2.3 *Efecto de la fecha de corte sobre el %MS*).

5.6. Efecto de la ocurrencia de tres días soleados o nublados sobre la composición química del forraje. Variaciones en el corto plazo.

5.6.1. Proteína Bruta.

Los días soleados redujeron el %PB respecto de los nublados sólo durante el otoño (ciclo inicial), indicando que el efecto del nivel de heliofanía sólo es importante cuando el %PB del forraje es elevado. El %PB se mantuvo constante a través de la sucesión de días nublados, mientras que disminuyó durante la sucesión de días soleados, sólo en el otoño (Figura 43). Una menor variación durante el invierno (segundo rebrote), tanto entre días nublados y soleados como a través de una sucesión de días soleados, coincide con los resultados observados en cuanto a la variación diurna y el efecto de la fertilización sobre el %PB en el invierno. Tanto la disminución en el %PB durante el día como la diferencia entre niveles de N fue menor en el invierno respecto del resto de los ciclos. El hecho de que el %PB en el invierno haya sido bajo podría haber limitado las posibilidades de cambios entre un día nublado y uno soleado, a través de una sucesión de días soleados, entre niveles de N y a través de las horas del día.

5.6.2. Carbohidratos no estructurales solubles.

Los días nublados redujeron el %CNES respecto de los soleados, aunque la diferencia, fue mayor en el invierno (Cuadro 26) que en el otoño (Cuadro 22). El %CNES en días nublados fue similar en el otoño respecto del invierno. Estos resultados indican que el impacto de los días soleados fue mayor en el invierno, lo cual es coherente con el hecho de que a medida que avanzó el segundo rebrote, la radiación aumentó, incrementando las diferencias entre un día nublado y uno soleado. El %CNES disminuyó a través de una sucesión de días nublados, alcanzando valores no inferiores a 15.0% y 9.0% en los tratamientos sin y con fertilización, respectivamente (Cuadro 30). Si estas variaciones de corto plazo en el %CNES son capaces de afectar la performance animal, cabría preguntarse en qué estación (otoño o invierno) las mismas tendrían un mayor impacto. Durante el otoño el consumo y la producción pueden encontrarse restringidos por un bajo %MS, por lo cual la diferencia en %CNES entre días nublados y soleados, aunque menor (2.7 unidades porcentuales), podría provocar un mayor impacto sobre la producción. Durante el invierno, donde el %MS del forraje no sería limitante para el

consumo, el posible efecto de variaciones en el %CNES sobre la producción podría ser menor, aunque la diferencia entre días nublados y soleados puede ser de 12.7 unidades. Ante esta situación, resulta difícil distinguir si el impacto de variaciones en el %CNES sobre la digestión y eventualmente sobre la producción, sería mayor en otoño o en invierno.

5.6.3. Materia Seca.

Los días nublados resultaron en una disminución en el %MS respecto de los soleados, aunque dicha reducción fue mayor durante el invierno respecto del otoño (Cuadros 25 y 21), tal como fuera observado para el caso del %CNES. El %MS durante días nublados fue similar en el otoño respecto del invierno. Estos resultados indican que la mayor diferencia entre días nublados y soleados en el invierno se debería a un mayor impacto de los días soleados debido a una mayor radiación. En días nublados, el %MS puede ser tan bajo y problemático desde el punto de vista del consumo del animal en el invierno como en el otoño (Cuadro 29). Dicho %MS se mantuvo bajo aun ante la ausencia de fertilización, ya que el mismo fue de 13.1%¹² en el otoño y de 13.9%¹² en el invierno. Si se considera que el consumo de materia seca aumenta poco o se mantiene constante cuando el forraje supera el 16-18% de MS, durante los días soleados del invierno, el %MS fue adecuado tanto para 0N (25.0%¹³) como para 120N (23.5%¹³), mientras que en días soleados durante el otoño el %MS fue bajo, aun en los tratamientos 0N (16.4%¹³). Por esto se puede decir que durante el ciclo otoñal el %MS se mantuvo bajo e invariable a través de las fechas y aun durante días soleados y sin fertilización nitrogenada, el %MS no sería suficiente para garantizar un consumo sin restricciones. En los tratamientos fertilizados el %MS sería aun más problemático desde el punto de vista del consumo animal.

Durante la sucesión de días soleados el %MS aumentó con la misma intensidad en ambos ciclos. Durante la sucesión de días nublados el %MS fue bajo (11.2% a 13.6%), presentando leves aumentos y disminuciones tanto en el otoño como en el invierno (Figura 41).

¹² promedio que surge de datos del Cuadro 29.

¹³ promedio que surge de datos del Cuadro 33.

La escasa variación en el %MS durante las sucesiones de días nublados podría deberse a que en el primer día nublado el %MS ya fue bajo por lo cual la posibilidad de seguir disminuyendo fue menor. Así, las mayores diferencias se encontraron entre un día nublado y uno soleado, principalmente en el invierno, ya que los aumentos a través de los días soleados o las disminuciones durante los días nublados fueron de menor magnitud.

5.7. Comentarios adicionales sobre la composición química del forraje durante el ensayo y su vinculación con la relación Carbohidratos no estructurales solubles/Proteína bruta.

Durante el ciclo inicial y el primer rebrote el %PB resultó, durante la mayor parte del tiempo, suficiente aun para categorías de altos requerimientos proteicos como terneros de recría y vacas lecheras de alta producción (Cuadro 38). Durante el segundo rebrote, el 67% del tiempo se encontraron contenidos de PB por debajo de 12%, incluso en los tratamientos 120N ya que, según los resultados del Análisis II, en el segundo rebrote la diferencia en cuanto al %PB entre niveles de fertilización fue escasa. Esto indica que en el segundo rebrote, el %PB podría resultar bajo para categorías de altos requerimientos proteicos.

Considerando que el consumo de MS se reduce significativamente cuando el forraje presenta un contenido de MS inferior a 16-18%, la situación crítica o problemática generada por un bajo %MS presentó una ventana amplia, que abarcó todo el ciclo inicial, aun con 0N y en días soleados y que se extendió hasta la tercer fecha de corte del primer rebrote (10/7). En el Cuadro 38 se observa que durante el período inicial el 95% del tiempo el %MS fue inferior a 18%, superando dicho límite sólo en el 5% de los casos, con los tratamientos 0N y en horarios de la tarde. Esto indica que la decisión de no fertilizar no solucionaría el bajo %MS del forraje durante el otoño. A medida que avanzaron los ciclos el %MS aumentó, llegando al segundo rebrote donde el 83% del tiempo el forraje presentó un %MS superior a 18%.

Cuadro 38. Porcentaje de datos por categoría según el contenido de materia seca (%MS), carbohidratos no estructurales solubles (%CNES) y proteína bruta (%PB) en cada ciclo de crecimiento y durante el período total del ensayo.

%PB				
	Inicial	Primer rebrote	Segundo rebrote	Período total
[9%-12%)	0	0	67	21
[12%-15%)	10	25	13	15
[15%-18%)	25	44	8	26
>18%	65	31	12	38
%MS				
	Inicial	Primer rebrote	Segundo rebrote	Período total
[12%-15%)	62	37	11	39
[15%-18%)	33	38	6	26
>18%	5	25	83	35
%CNES				
	Inicial	Primer rebrote	Segundo rebrote	Período total
[10%-15%)	3	4	6	5
[15%-20%)	32	56	25	37
>20%	65	40	69	58

La relación óptima entre el porcentaje de carbohidratos no estructurales solubles y de proteína degradable en la dieta sería 2/1 (Hoover y Stokes, 1991). Esta experiencia fue realizada *in vitro*, variando la relación CNES/PD mediante la modificación del %PD, manteniendo constante el %CNES en 25%, 37% y 54% (ver punto 2.7). Por ejemplo, si el %CNES se mantuvo constante en 25% y el %PD varió entre 12.5% y 3.1%, la relación CNES/PD varió entre 2/1 y 8/1, respectivamente. Con este rango de PD evaluado, se observó que el mayor rendimiento microbiano se obtuvo con la menor relación CNES/PD (2/1), es decir, con el mayor nivel de PD evaluado. Así, los posibles *desbalances* en este trabajo estarían determinados por la falta y no por el exceso de PD, es decir, por una relación CNES/PD mayor a 2/1. Del trabajo no se desprende qué resultados se obtendrían con una relación CNES/PD menor a 2/1, dada por un aumento del %PD (superior a 12.5%), situación que podría esperarse durante gran parte del período de aprovechamiento del verdeo (Cuadro 38), o por una disminución en el %CNES por debajo de 25%. La situación más crítica desde el punto de vista de un desbalance entre estos componentes se presentó durante una sucesión de días nublados, con 120 kgN/ha y en el ciclo inicial (aproximadamente 10% de CNES y 29% de PB, Cuadros 30 y 31) y un %MS

de 11.0% (Cuadro 29). En esta situación, la relación CNES/PB sería de 0.35/1 o CNES/PD de 0.41/1 si se considera un 85% de degradabilidad de la proteína bruta del forraje (Elizalde *et al.*, 1999a). Así, al efecto negativo de un escaso contenido de MS (bajo consumo) se sumaría un posible desbalance entre el %CNES y el %PB. El 21% de las muestras de forraje tomadas durante el ensayo presentó una relación CNES/PD menor a 1/1, del cual la mayoría se presentó durante el ciclo inicial y primer rebrote, debido a un mayor %PB (>20%) y con un nivel de %CNES entre 10% y 20%. Prácticamente en la totalidad de estos casos, el %MS se encontró entre 12-14%. Si se considera que una relación CNES/PD de 2/1 es adecuada, el forraje de raigrás anual se debería calificar como *desbalanceado* durante el 70% del tiempo porque dicha relación fue inferior a 2/1, situación no contemplada en el trabajo de Hoover y Stokes (1991). El 30% del tiempo el forraje presentó una relación CNES/PD mayor o igual a 2/1, en gran medida durante el segundo rebrote debido principalmente a un menor %PB. En estos casos, el %CNES se encontró entre 18% y 34% y el %PB fue inferior a 15%, resultando en la mayoría de las muestras entre 9% y 12% lo cual indica que una relación CNES/PB óptima se obtendría a expensas de un %PB que, según la categoría de animales, podría llegar a ser insuficiente.

Ante esta situación, cabe preguntarse si teniendo en cuenta el origen de la relación 2/1, ésta puede ser tomada como indicativo de un correcto balance, ya que en un verdeo como el raigrás anual, dicha relación se obtuvo sólo durante un 30% del tiempo. Resulta difícil caracterizar y aceptar al forraje de raigrás anual como un alimento desbalanceado durante prácticamente todo su ciclo. Méndez y Davies (2003) observaron ganancias de peso de aproximadamente 1 kg/an/d en novillos pastoreando un verdeo de avena durante el otoño (no se dispone del dato de %MS del forraje ni del consumo). En dicha experiencia la relación CNES/PB fue de 0.6/1, la cual es sustancialmente inferior a la que se considera como óptima. Si bien este resultado no descarta la posibilidad de obtener mejores ganancias con relaciones CNES/PB cercanas a 2/1, sí es evidencia de que con una relación muy inferior se puede lograr un buen aumento de peso. En función de lo expuesto, el criterio para calificar a un forraje como desbalanceado desde el punto de vista de la relación CNES/PB no es claro, ya que el índice que se toma como orientativo fue obtenido bajo condiciones experimentales no extrapolables a las situaciones de un verdeo destinado al aprovechamiento directo. Asimismo, cabe preguntarse si ese índice en el forraje sería el mismo para todas las categorías de animales e incluso si sería

independiente del consumo de materia seca que puedan lograr los animales sobre dicho recurso. Por el contrario, se puede afirmar que en las condiciones de este ensayo, el %CNES puede llegar a valores de 9-10% ante una sucesión de días nublados y con 120 kgN/ha, aunque este valor se restablecería a 14.5% y hasta 23.2% ante la ocurrencia de un día de sol (Cuadro 34). Al respecto, Ciavarella *et al.* (2000a) observaron que las pasturas sombreadas, una vez eliminada la cobertura, tienen la capacidad de recomponer en pocas horas el %CNES, alcanzando el nivel de aquellas que no fueron sombreadas. En el Cuadro 38 se observa que las situaciones donde el forraje presentó un %CNES entre 10-15% (menor valor observado), fueron sólo un 5% de los casos en el período total del ensayo y homogéneamente distribuidos en los tres ciclos. Si se considera que éste es el límite inferior en cuanto al %CNES, el cual se corresponde con un alto %PB (>18%), una relación CNES/PB tan desfavorable se presentaría en una escasa cantidad de oportunidades, la cual podría aumentar en años particularmente nublados. En la experiencia de Méndez y Davies (2003) los novillos ganaron 1 kg/an/d con un verdeo que presentó un 11% de CNES y un 18% de PB. Esto implica que, desde el punto de vista del %CNES en el forraje y su posible impacto sobre la ganancia de peso, un rango de 10-15% no podría ser considerado limitante, al menos para lograr el aumento de peso arriba mencionado. Asimismo, habría que considerar que una relación CNES/PB supuestamente baja (inferior a 2/1) no sería suficiente para garantizar bajas ganancias de peso si ésta va acompañada por elevados consumos de materia seca. Marsh (1975) observó ganancias de peso de 1.09 y 1.37 kg/an/d en animales en crecimiento con elevados consumos de materia seca sobre pasturas de primavera. Si bien en el trabajo no se estimó el %CNES de la pastura (mezcla de raigrás perenne y trébol blanco), el contenido de PB fue de 20.9%, lo cual indica que para que ese recurso tenga una relación CNES/PB de 2/1 el contenido de CNES debería ser 41.8%. Valores como este último no fueron encontrados ni en la bibliografía revisada ni en los resultados del presente ensayo de tesis, por lo cual es probable que la relación CNES/PB en el trabajo de Marsh (1975) haya sido muy inferior a 2/1. Estos resultados indicarían que las ganancias de peso pueden ser elevadas si se garantizan elevados consumos, a pesar de que el forraje presente una relación CNES/PB inferior a la que en la bibliografía se considera como óptima. Por ello, no sería correcto establecer una relación entre CNES/PB y performance animal sin dimensionar el efecto del consumo de materia seca per se.

6. CONCLUSIONES.

- Hipótesis planteada: *El nivel de fertilización nitrogenada disminuye la concentración de carbohidratos no estructurales y de materia seca.*

Conclusión: El nivel de fertilización nitrogenada disminuye el %CNES (23.9% y 19.5% para 0 y 120N, respectivamente) y el %MS (18.5% y 16.7% para 0 y 120N, respectivamente), aunque las diferencias en el %CNES entre niveles de fertilización disminuyen a medida que transcurren los ciclos y las diferencias en el %MS disminuyen a través de las fechas.

- Hipótesis planteada: *La concentración de carbohidratos no estructurales y materia seca es mayor y la de proteína bruta menor a medida que transcurren los días dentro del mismo ciclo de crecimiento y a medida que transcurren los diferentes ciclos de crecimiento.*

Conclusión: El %CNES (22.7%), %MS (14.8%) y %PB (21.3%) se mantienen invariables a medida que transcurren los días (fechas) dentro del ciclo otoñal. El %CNES se mantiene sin grandes cambios con el avance de los días (fechas) durante el primer rebrote (19.6%) mientras que el %MS aumenta (de 15.5% a 19.4%) y el %PB disminuye (de 22.2% a 14.6%). El %CNES y el %MS aumentan (de 16.8% a 28.1% y de 16.5% a 26.1% para el caso de CNES y MS, respectivamente) y el %PB disminuye (de 17.5% a 10.2%) a medida que transcurren los días dentro del segundo rebrote. El %MS aumenta (de 14.8% a 21.9%) y el %PB disminuye (de 21.6% a 12.4%) a medida que transcurren los diferentes ciclos. El %CNES disminuye entre el ciclo inicial (23.0%) y el primer rebrote (19.6%) y aumenta entre éste y el segundo rebrote (22.5%).

- Hipótesis planteada: *La concentración de carbohidratos no estructurales y materia seca es menor y la de proteína bruta es mayor en la mañana respecto de la tarde.*

Conclusión: El %CNES y el %MS son menores y el %PB es mayor en la mañana (19.7%, 16.0% y 18.3% para CNES, MS y PB, respectivamente) respecto de la tarde (23.0%, 18.3% y 16.5% para CNES, MS y PB, respectivamente), aunque la magnitud de estos cambios puede variar en función del ciclo de crecimiento y de la fecha de corte.

- *Hipótesis planteada: La variación estacional y diurna de los componentes de la materia seca pueden estar afectadas por el nivel de fertilización nitrogenada.*

Conclusión: El aumento en el %MS a través de los ciclos (7.1 unidades porcentuales) no es afectado por el nivel de fertilización. La disminución en el %PB a través de los ciclos es mayor para los tratamientos fertilizados (11.9 y 5.8 unidades porcentuales para 120 y 0N, respectivamente). La disminución en el %CNES entre el ciclo inicial y el primer rebrote es mayor en los tratamientos no fertilizados (4.0 y 2.0 unidades para 0 y 120N, respectivamente), mientras que el aumento entre el primer y segundo rebrote se manifiesta sólo en los tratamientos fertilizados (4.8 unidades), manteniéndose constante en el caso de los no fertilizados. El %MS, %CNES y %PB se mantienen invariables a través de las fechas en el ciclo otoñal y esto es independiente del nivel de fertilización aplicado. El aumento en el %MS y la disminución en el %PB a través de las fechas en el primer y segundo rebrotos son mayores en los tratamientos fertilizados (5.9 y 10.8 unidades porcentuales de aumento en el %MS y 12.1 y 9.4 unidades de disminución en el %PB para el primer y segundo rebrotos, respectivamente) respecto de los no fertilizados (1.9 y 8.4 unidades de aumento en el %MS y 3.0 y 5.3 unidades de disminución en el %PB para el primer y segundo rebrotos, respectivamente). El %CNES se mantiene sin grandes cambios a través de las fechas durante el primer rebrote tanto en los tratamientos fertilizados como en los no fertilizados. El aumento en el %CNES a través de las fechas en el segundo rebrote es mayor en los tratamientos fertilizados (14.0 y 8.8 unidades porcentuales para 120 y 0N, respectivamente). La variación diurna en el %MS es afectada por el nivel de nitrógeno sólo durante el ciclo otoñal, siendo mayor en los tratamientos no fertilizados (2.9 unidades) respecto de los fertilizados (2.0 unidades). La variación diurna en el %CNES y %PB no es afectada por el nivel de fertilización nitrogenada.

- *Hipótesis planteada: La ocurrencia de tres o más días nublados o de sol consecutivos afecta la concentración de proteína bruta, carbohidratos no estructurales solubles y materia seca y ese efecto puede ser dependiente del nivel de fertilización nitrogenada y del ciclo de crecimiento.*

Conclusión: El %MS y %CNES son mayores en los días soleados (20.1% de MS y 22.6% de CNES) respecto de los nublados (12.6% de MS y 14.9% de CNES) y esa

diferencia es mayor en el segundo rebrote (11.6 y 12.7 unidades porcentuales para MS y CNES, respectivamente) respecto del ciclo inicial (3.5 y 2.7 unidades para MS y CNES, respectivamente). Los días nublados aumentan el %PB del forraje (22.3%) respecto de los soleados (19.2%) sólo durante el ciclo inicial. El %MS y el %CNES aumentan a través de una sucesión de días soleados (de 19.5 a 21.0% y de 20.3% a 24.2% para MS y CNES, respectivamente), mientras que el %PB disminuye sólo durante el ciclo inicial (de 21.1% a 17.2%). El %CNES disminuye a medida que transcurren los días nublados (de 18.4% a 13.1%), independientemente del ciclo de crecimiento. El %MS y %PB se mantienen sin grandes cambios a medida que transcurren los días nublados tanto en el ciclo inicial (12.4% de MS y 22.3% de PB) como en el segundo rebrote (12.7% de MS y 19.0% de PB). Ninguno de estos efectos es modificado por el nivel de fertilización nitrogenada.

7. IMPLICANCIAS PRÁCTICAS.

En función de los resultados obtenidos se puede decir que el %MS en el raigrás anual fue insuficiente, desde el punto de vista del consumo del animal, durante un período de 50 días aproximadamente, que abarcó todo el ciclo inicial (otoño) y gran parte del primer rebrote (principio de invierno). Esto se presentaría aún en los tratamientos sin fertilización, ya que el suelo sería capaz de proveer una elevada cantidad de N durante el período mencionado. En suelos con un menor contenido de N, el %MS durante el otoño podría ser mayor al observado en el presente ensayo o al menos similar pero durante un período más corto, lo cual atenuaría los efectos negativos sobre el consumo. Otra situación en la cual podría observarse un %MS mayor al del presente ensayo sería en un verdeo sembrado más tarde, donde el ciclo inicial de crecimiento se trasladaría hacia un período de menores temperaturas donde el aporte de N por parte del suelo es menor. Esto se traduciría en una reducción de la tasa de crecimiento, del %PB del forraje y en un aumento en el %MS, si bien el retraso de la siembra es una alternativa que resigna producción total de biomasa. Por el contrario, en situaciones con baja carga animal, el período crítico en cuanto al %MS se podría agravar y/o extender en el tiempo ya que los animales podrían consumir una mayor proporción de lámina con contenidos de materia seca inferiores a los registrados en el presente ensayo (planta entera).

El %MS aumentó por encima de 16% cuando el %PB fue inferior a 17-18%, lo cual fue dependiente del consumo de N que fue haciendo el forraje a medida que avanzaron las fechas y los ciclos. Durante el otoño, el %MS se mantuvo bajo e invariable a través de las fechas, incluso sin fertilización nitrogenada o con biomásas acumuladas de aproximadamente 4000 kgMS/ha en los tratamientos fertilizados. Esto implica que el bajo %MS en otoño en suelos de buena fertilidad no se soluciona evitando la fertilización como así tampoco esperando una mayor acumulación de biomasa para ingresar los animales. Teniendo en cuenta el bajo %MS que presentó el forraje durante gran parte el período otoño-invernal y el efecto detrimental del mismo sobre el consumo, cabe preguntarse si aún garantizando una correcta asignación de forraje en pie (kgMS/an/d), el animal sería capaz de consumir a voluntad. Ante esta situación, el forraje de otoño debería ser un recurso asignado a categorías que, por una decisión estratégica, pueden tolerar menores

ganancias de peso que otras. Otra alternativa sería recurrir a la suplementación con forrajes de buena calidad, que eleven el %MS sin deprimir la calidad total de la dieta.

El %MS y el %CNES se encuentran positivamente asociados, lo cual implica que un aumento en el %MS está asociado con un aumento en el %CNES. Así, resultaría difícil separar el efecto positivo de un aumento en el contenido de MS sobre el consumo del efecto generado por un aumento conexo en el %CNES. En diversas situaciones se ha considerado que la composición química del forraje, en cuanto a su relación CNES/PB, sería responsable al menos en parte de las bajas ganancias de peso otoñales. Según el presente ensayo, dicha relación estaría determinada, aún en los momentos más críticos y con un alto nivel de fertilización, por un %CNES superior a 10%, el cual sería suficiente para lograr ganancias de peso aceptables, si el %MS no fuese limitante. En este ensayo, un 10% de CNES fue acompañado por un 11% de MS y este último se encuentra por debajo del límite mínimo (16-18% de MS) sugerido por la bibliografía para evitar restricciones al consumo. Si bien no se descarta un posible desbalance entre CNES y PB durante el otoño, no se dispone de un parámetro certero que indique cuándo un forraje se encuentra desbalanceado. Por el contrario, sí se puede asegurar que el forraje de otoño presenta un %MS inferior a 16-18%, lo cual podría resultar en serias restricciones al consumo. Las prácticas que tiendan a aumentar el %MS, como por ejemplo el pastoreo de tarde, tendrán más impacto sobre el consumo en el ciclo otoñal respecto del invernal.

La decisión de no fertilizar no soluciona el bajo %MS del forraje de otoño. Por el contrario, en períodos como el segundo rebrote, donde el %PB es bajo, donde el %MS dejaría de ser una limitante desde el punto de vista del consumo y donde la biomasa de hojas es inferior a 2000 kgMS/ha, la fertilización nitrogenada resultaría beneficiosa. Por un lado, mejoraría el %PB del forraje, lo cual resultaría en una mayor concentración de NH_3 en el rumen y en una mejora en la digestión de la fibra del forraje de alta calidad. Asimismo, mejoraría la capacidad de producción de CNES y aumentaría la producción de biomasa total y de hojas, factor positivamente relacionado con el consumo de forraje en pastoreo.

8. BIBLIOGRAFÍA.

1. AGNUSDEI, M.G.; COLABELLI, M.R.; FERNÁNDEZ GRECCO, R.C. 2001. Crecimiento estacional de forraje de pasturas y pastizales naturales para el sudeste bonaerense. INTA EEA Balcarce, Argentina. Boletín Técnico N° 152. 31 p.
2. AKMAL, M.; JANSSENS, M.J.J. 2004. Productivity and light use efficiency of perennial ryegrass with contrasting water and nitrogen supplies. *Field Crops Res.* 88: 143-155.
3. ÅMAN, P. 1985. Chemical composition and *in vitro* degradability of major chemical constituents in botanical fractions of red clover harvested at different stages of maturity. *J. Sci. Food Agric.* 36: 775-780.
4. ANSLOW, R.C.; GREEN, J.O. 1967. The seasonal growth of pasture grasses. *J. Agric. Sci. Camb.* 68: 109-122.
5. AUDA, H.; BLASER, R.E.; BROWN, R.H. 1966. Tillering and carbohydrate contents of orchardgrass as influenced by environmental factors. *Crop Sci.* 6: 139-143.
6. BAKER, B.; JUNG, G.A. 1968. Effect of environmental conditions on the growth of four perennial grasses. I. Response to controlled temperature. *Agron. J.* 60: 155-158.
7. BEEVER, D.E.; TERRY, R.A.; CAMMELL, S.B.; WALLACE, A.S. 1978. The digestion of spring and autumn harvested perennial ryegrass by sheep. *J. Agric. Sci. Camb.* 90: 463-470.
8. BEEVERS, L.; SCHRADER, L.E.; FLESHER, D.; HAGEMAN, R.H. 1965. The role of light and nitrate in the induction of nitrate reductase in radish cotyledons and maize seedlings. *Plant Physiol.* 40: 691-698.
9. BÉLANGER, G.; GASTAL, F.; LEMAIRE, G. 1992a. Growth analysis of a tall fescue sward fertilized with different rates of nitrogen. *Crop Sci.* 32: 1371-1376.
10. BÉLANGER, G.; GASTAL, F.; WAREMBOURG, F.R. 1992b. The effects of nitrogen fertilization and the growing season on carbon partitioning in a sward of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). *Ann. Bot.* 70: 239-244.
11. BÉLANGER, G.; GASTAL, F.; WAREMBOURG, F.R. 1994. Carbon balance of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.): effects of nitrogen fertilization and the growing season. *Ann. Bot.* 74: 653-659.
12. BÉLANGER, G.; MCQUEEN, R.E. 1999. Leaf and stem nutritive value of timothy grown with varying N nutrition in spring and summer. *Can. J. Plant Sci.* 79: 223-229.
13. BÉLANGER, G.; RICHARDS, J.E. 1997. Growth analysis of timothy grown with varying N nutrition. *Can. J. Plant Sci.* 77: 373-380.
14. BLASER, R.E. 1964. Symposium on forage utilization: effects of fertility levels and stage of maturity on forage nutritive value. *J. Anim. Sci.* 23: 246-253.
15. BONESMO, H.; BÉLANGER, G. 2002. Timothy yield and nutritive value by the CATIMO model: II. Digestibility and fiber. *Agron. J.* 94: 345-350.
16. BOUDON, A.; PEYRAUD, J.L. 2001. The release of intracellular constituents from fresh ryegrass (*Lolium perenne* L.) during ingestive mastication in dairy cows: effect of intracellular constituent, season and stage of maturity. *Anim. Feed Sci. Technol.* 93: 229-245.

17. BROWN, R.H.; BLASER, R.E. 1965. Relationship between reserve carbohydrate accumulation and growth rate in orchardgrass and tall fescue. *Crop Sci.* 5: 577-582.
18. BROWN, R.H.; BLASER, R.E. 1970. Soil moisture and temperature effects on growth and soluble carbohydrates of orchardgrass (*Dactylis glomerata*). *Crop Sci.* 10: 213-216.
19. BURTON, G.W.; JACKSON, J.E.; KNOX, F.E. 1959. The influence of light reduction upon the production, persistence and chemical composition of coastal bermudagrass *Cynodon dactylon*. *Agron. J.* 51: 537-542.
20. CABRERA ESTRADA, J.I.; DELAGARDE, R.; FAVERDIN, P.; PEYRAUD, J.L. 2004. Dry matter intake and eating rate of grass by dairy cows is restricted by internal, but not external water. *Anim. Feed Sci. Technol.* 114: 59-74.
21. CABRERA ESTRADA, J.I.; DELAGARDE, R.; FAVERDIN, P.; PEYRAUD, J.L. 2003. The addition of external water to fresh grass does not affect dry matter intake, feeding behaviour and rumen characteristics in dairy cows. *Anim. Res.* 52: 3-16.
22. CIAVARELLA, T.A.; DOVE, H.; LEURY, B.J.; SIMPSON, R.J. 2000b. Diet selection by sheep grazing *Phalaris aquatica* L. pastures of different water-soluble carbohydrate content. *Aust. J. Agric. Res.* 51: 757-764.
23. CIAVARELLA, T.A.; SIMPSON, R.J.; DOVE, H.; LEURY, B.J.; SIMS, I.M. 2000a. Diurnal changes in the concentration of water-soluble carbohydrates in *Phalaris aquatica* L. pasture in spring, and the effect of short-term shading. *Aust. J. Agric. Res.* 51: 749-756.
24. COLBY, W.G.; DRAKE, M.; FIELD, D.L.; KREOWSKI, G. 1965. Seasonal pattern of fructosan in orchardgrass stubble as influenced by nitrogen and harvest management. *Agron. J.* 57: 169-173.
25. COMBELLAS, J.; HODGSON, J. 1979. Herbage intake and milk production by grazing dairy cows. 1. The effects of variation in herbage mass and daily herbage allowance in a short-term trial. *Grass Forage Sci.* 34: 209-214.
26. DELAGARDE, R.; PEYRAUD, J.L.; DELABY, L. 1997. The effect of nitrogen fertilization level and protein supplementation on herbage intake, feeding behaviour and digestion in grazing dairy cows. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 66: 165-180.
27. DELAGARDE, R.; PEYRAUD, J.L.; DELABY, L.; FAVERDIN, P. 2000. Vertical distribution of biomass, chemical composition and pepsin – cellulase digestibility in a perennial ryegrass sward: interaction with month of year, regrowth age and time of day. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 84: 49-68.
28. ELIZALDE, J.C. 2003. Limitaciones nutricionales en la utilización de verdeos en vacunos. INTA EEA General Villegas, Argentina. En: 3er. Jornada Demostrativa Invierno al Verdeo. pp. 16-21.
29. ELIZALDE, J.C.; MERCHEN, N.R.; FAULKNER, D.B. 1999a. Fractionation of fiber and crude protein in fresh forages during the spring growth. *J. Anim. Sci.* 77: 476-484.
30. ELIZALDE, J.C.; MERCHEN, N.R.; FAULKNER, D.B. 1999b. In situ dry matter and crude protein degradation of fresh forages during the spring growth. *J. Dairy Sci.* 82: 1978-1990.
31. ELIZALDE, J.C.; SANTINI, F.J. 1992. Factores nutricionales que limitan las ganancias de peso en bovinos en el período otoño-invierno. INTA EEA Balcarce, Argentina. Boletín Técnico N° 104. 27 p.

32. ELIZALDE, J.C.; SANTINI, F.J.; PASINATO, A.M. 1994. The effect of stage of harvest on the processes of digestion in cattle fed winter oats indoors. I. Digestion of organic matter, neutral detergent fibre and water soluble carbohydrates. *Anim. Feed Sci. Technol.* 47: 201-211.
33. ESAU, K. 1977. *Anatomy of seed plants*. 2nd edition. John Wiley and Sons, Inc. ed. New York. 550 p.
34. FISHER, D.S.; MAYLAND, H.F.; BURNS, J.C. 1999. Variation in ruminant's preference for tall fescue hays cut either at sundown or at sunup. *J. Anim. Sci.* 77: 762-768.
35. FRANK, A.B. 1994. Physiological comparisons of crested wheatgrass and western wheatgrass to water. *J. Range Manage.* 47: 460-466.
36. FULKERSON, W.J.; SLACK, K.; HENNESSY, D.W.; HOUGH, G.M. 1998. Nutrients in ryegrass (*Lolium* spp.), white clover (*Trifolium repens*) and kikuyu (*Pennisetum clandestinum*) pastures in relation to season and stage of regrowth in a subtropical environment. *Aust. J. Exp. Agric.* 38: 227-240.
37. GARZA, R.; BARNES, R.F.; MOTT, G.O.; RHYKERD, C.L. 1965. Influence of light intensity, temperature and growing period on the growth, chemical composition and digestibility of culver and tanverde alfalfa seedlings. *Agron. J.* 57: 417-420.
38. GASTAL, F.; BÉLANGER, G. 1993. The effects of nitrogen fertilization and the growing season on photosynthesis of field-grown tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) canopies. *Ann. Bot.* 72: 401-408.
39. GASTAL, F.; BÉLANGER, G.; LEMAIRE, G. 1992. A model of the leaf extension rate of tall fescue in response to nitrogen and temperature. *Ann. Bot.* 70: 437-442.
40. GORDON, A.H.; LOMAX, J.A.; DALGARNO, K.; CHESSON, A. 1985. Preparation and composition of mesophyll, epidermis and fibre cell walls from leaves of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). *J. Sci. Food Agric.* 36: 509-519.
41. HAGEMAN, R.H.; FLESHER, D.; GITTER, A. 1961. Diurnal variation and other light effects influencing the activity of nitrate reductase and nitrogen metabolism in corn. *Crop Sci.* 1: 201-204.
42. HOLMES, J.C.; LANG, R.W. 1963. Effects of fertiliser nitrogen and herbage dry-matter content on herbage intake and digestibility in bullocks. *Anim. Prod.* 5: 17-26.
43. HOLT, D.A.; HILST, A.R. 1969. Daily variation in carbohydrate content of selected forage crops. *Agron. J.* 61:239-242.
44. HOOVER, W.H.; STOKES, S.R. 1991. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *J. Dairy Sci.* 74: 3630-3644.
45. HORNECK, D.A.; MILLER, R.O. 1998. Determination of total nitrogen in plant tissue. In: *Handbook of reference methods for plant analysis*. Kalra, Y.P. ed. CRC Press. 75-83.
46. HUMPHREYS, M.O. 1989. Water-soluble carbohydrates in perennial ryegrass breeding. III. Relationships with herbage production, digestibility and crude protein content. *Grass Forage Sci.* 44: 423-430.
47. HYDER, D.N.; SNEVA, F.A. 1959. Growth and carbohydrate trends in crested wheatgrass. *J. Range Manage.* 12: 271-276.

48. JONES, D.I.H.; GRIFFITH, G.; WALTERS, R.J.K. 1961. The effect of nitrogen fertilizer on the water-soluble carbohydrate content of perennial ryegrass and cocksfoot. *J. Br. Grassl. Soc.* 16: 272-275.
49. KENNEY, P.A.; BLACK, J.L.; COLEBROOK, W.F. 1984. Factors affecting diet selection by sheep. III. Dry matter content and particle length of forage. *Aust. J. Agric. Res.* 35: 831-838.
50. KUEHL, R.O. 1994. *Statistical principles of research design and analysis*. Duxbury Press, Wadsworth, Belmont, California. 686 p.
51. LEAVER, J.D. 1985. Milk production from grazed temperate grasslands. *J. Dairy Res.* 52: 313-344.
52. LECHTENBERG, V.L.; HOLT, D.A.; YOUNGBERG, H.W. 1971. Diurnal variation in nonstructural carbohydrates, *in vitro* digestibility and leaf to stem ratio of alfalfa. *Agron. J.* 63: 719-724.
53. LECHTENBERG, V.L.; HOLT, D.A.; YOUNGBERG, H.W. 1972. Diurnal variation in nonstructural carbohydrates of *Festuca arundinacea* (Schreb.) with and without N fertilizer. *Agron. J.* 64: 302-305.
54. LEE, M.R.F.; HARRIS, L.J.; MOORBY, J.M.; HUMPHREYS, M.O.; THEODOROU, M.K.; MACRAE, J.C.; SCOLLAN, N.D. 2002. Rumen metabolism and nitrogen flow to the small intestine in steers offered *Lolium perenne* containing different levels of water-soluble carbohydrate. *Anim. Sci.* 74: 587-596.
55. LEMAIRE, G.; CHAPMAN, D. 1996. Tissue flows in grazed plant communities. In: *The ecology and management of grazing systems*. Hodgson, J. and Illius, A.W. eds. CAB International. pp. 3-36.
56. LEMAIRE, G.; GASTAL, F. 1997. N uptake and distribution in plant canopies. In: *Diagnosis of the nitrogen status in crops*. Lemaire, G. ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp. 3-43.
57. LEMAIRE, G.; SALETTE, J. 1984. Relation entre dynamique de croissance et dynamique de prélèvement d'azote pour un peuplement de graminées fourragères. 1. Etude de l'effet du milieu. *Agronomie* 4: 423-430.
58. MARSH, R. 1975. A comparison between spring and autumn pasture for beef cattle at equal grazing pressures. *J. Br. Grassl. Soc.* 30: 165-170.
59. MATTOS, C. 2002. Protein-water interactions in a dynamic world. *Trends Biochem. Sci.* 27: 203-208.
60. MAY, L.H.; DAVIDSON, J.L. 1958. The role of carbohydrate reserves in regeneration of plants. I. Carbohydrate changes in subterranean clover following defoliation. *Aust. J. Agric. Res.* 9: 767-777.
61. MÉNDEZ, D. y DAVIES, P. 2003. Calidad de forraje y bajas ganancias de peso otoñales. INTA EEA General Villegas, Argentina. En: 3er. Jornada Demostrativa Invierno al Verdeo. pp. 7-9.
62. METSON, A.J.; SAUNDERS, W.M.H. 1978. Seasonal variations in chemical composition of pasture. II. Nitrogen, sulphur and soluble carbohydrate. *N. Z. J. Agric. Res.* 21: 355-364.
63. MILLER, L.A.; MOORBY, J.M.; DAVIES, D.R.; HUMPHREYS, M.O.; SCOLLAN, N.D.; MACRAE, J.C.; THEODOROU, M.K. 2001. Increased concentration of water-soluble

- carbohydrate in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.): milk production from late-lactation dairy cows. *Grass Forage Sci.* 56: 383-394.
64. MOLLER, S.; MATTHEW, C.; WILSON, G.F. 1993. Pasture protein and soluble carbohydrate levels in spring dairy pasture and associations with cow performance. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.* 53: 83-86.
 65. MOWAT, D.N.; FULKERSON, R.S.; TOSSELL, W.E.; WINCH, J.E. 1965. The *in vitro* digestibility and protein content of leaf and stem portions of forages. *Can. J. Plant Sci.* 45: 321-331.
 66. NOWAKOWSKI, T.Z. 1962. Effects of nitrogen fertilizers on total nitrogen, soluble nitrogen and soluble carbohydrate contents of grasses. *J. Agric. Sci.* 59: 387-392.
 67. ORR, R.J.; RUTTER, S.M.; PENNING, P.D.; ROOK, A.J. 2001. Matching grass supply to grazing patterns for dairy cows. *Grass Forage Sci.* 56: 352-361.
 68. OSORO, M.; CEBRIAN, M. 1989. Digestibility of energy and gross energy intake in fresh pastures. *Grass Forage Sci.* 44: 41-46.
 69. PEYRAUD, J.L.; ASTIGARRAGA, L. 1998. Review of the effect of nitrogen fertilization on the chemical composition, intake, digestion and nutritive value of fresh herbage: consequences on animal nutrition and N balance. *Anim. Feed Sci. Technol.* 72: 235-259.
 70. PEYRAUD, J.L.; ASTIGARRAGA, L.; FAVERDIN, P. 1997. Digestion of fresh perennial ryegrass fertilized at two levels of nitrogen by lactating dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 64: 155-171.
 71. PICHARD, G.; ALCALDE, J.A. 1990. Determinación de carbohidratos no estructurales. En: *Nutrición de Rumiantes: Guía Metodológica de Investigación*. M. E. Ruiz y A. Ruiz eds. IICA, San José de Costa Rica. 3-20.
 72. RADOJEVIC, I.; SIMPSON, R.J.; ST. JOHN, J.A.; HUMPHREYS, M.O. 1994. Chemical composition and *in vitro* digestibility of lines of *Lolium perenne* selected for high concentrations of water-soluble carbohydrate. *Aust. J. Agric. Res.* 45: 901-912.
 73. RAGUSE, C.A.; SMITH, D. 1965. Carbohydrate content in alfalfa herbage as influenced by methods of drying. *J. Agric. Food Chem.* 13: 306-309.
 74. REARTE, D.H. 2005. New insights into the nutritional value of grass. *Proc. 20th Int. Grassl. Cong.* Dublin, Irlanda. 49-59.
 75. REED, K.F.M. 1978. The effect of season of growth on the feeding value of pasture. *J. Br. Grassl. Soc.* 33: 227-234.
 76. REEVES, M.; FULKERSON, W.J.; KELLAWAY, R.C. 1996. Forage quality of kikuyu (*Pennisetum clandestinum*): the effect of time of defoliation and nitrogen fertiliser application and in comparison with perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Aust. J. Agric. Res.* 47: 1349-1359.
 77. REID, R.L.; JUNG, G.A.; KINSEY, C.M. 1967. Nutritive value of nitrogen-fertilized orchardgrass pasture at different periods of the year. *Agron. J.* 59: 519-525.
 78. RIBEIRO, J.M.C.R.; MACRAE, J.C.; WEBSTER, A.J.F. 1981. An attempt to explain differences in the nutritive value of spring and autumn harvested dried grass. *Proc. Nutr. Soc.* 40: 12A.

79. ROBSON, M.J.; PARSONS, A.J. 1978. Nitrogen deficiency in small closed communities of S24 ryegrass. I. Photosynthesis, respiration, dry matter production and partition. *Ann. Bot.* 42: 1185-1197.
80. SANDERSON, M.A.; WEDIN, W.F. 1989. Nitrogen in the detergent fibre fractions of temperate legumes and grasses. *Grass Forage Sci.* 44: 159-168.
81. SAS. 1999. SAS/STAT® User's guide (Release 8.0). SAS Inst. Inc., Cary, NC.
82. SICHER, R.C.; KREMER, D.F. 1984. Changes of sucrose-phosphate synthase activity in barley primary leaves during light/dark transitions. *Plant Physiol.* 76: 910-912.
83. SICHER, R.C.; KREMER, D.F.; HARRIS, W.G. 1984. Diurnal carbohydrate metabolism of barley primary leaves. *Plant Physiol.* 76: 165-169.
84. SINCLAIR, T.R.; HORIE, T. 1989. Leaf nitrogen, photosynthesis and crop radiation use efficiency: a review. *Crop Sci.* 29: 90-98.
85. SMITH, D. 1975. Trends of nonstructural carbohydrates in the stem bases of switchgrass. *J. Range Manage.* 28: 389-391.
86. SMITH, D.; SILVA, J. 1969. Use of carbohydrate and nitrogen root reserves in the regrowth of alfalfa from greenhouse experiments under light and dark conditions. *Crop Sci.* 9: 464-467.
87. SMITH, K.F.; SIMPSON, R.J.; ORAM, R.N.; LOWE, K.F.; KELLY, K.B.; EVANS, P.M.; HUMPHREYS, M.O. 1998. Seasonal variation in the herbage yield and nutritive value of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars with high or normal herbage water-soluble carbohydrate concentrations grown in three contrasting Australian dairy environments. *Aust. J. Exp. Agric.* 38: 821-830.
88. STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. 1988. Bioestadísticas: Principios y procedimientos. 2º edición. McGraw-Hill Interamericana eds. México D.F. 580 p.
89. TERRY, R.A.; TILLEY, J.M.A. 1964. The digestibility of the leaves and stems of perennial ryegrass, cocksfoot, timothy, tall fescue, lucerne and sainfoin, as measured by *in vitro* procedure. *J. Br. Grassl. Soc.* 19: 363-372.
90. TREHARNE, K.J.; COOPER, J.P.; TAYLOR, T.H. 1968. Growth response of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) to different light and temperature environments. II. Leaf age and photosynthetic activity. *Crop Sci.* 8: 441-445.
91. TREVASKIS, L.M.; FULKERSON, W.J. 1999. The relationship between various animal and management factors and milk urea, and its association with reproductive performance of dairy cows grazing pasture. *Livest. Prod. Sci.* 57: 255-265.
92. TREVASKIS, L.M.; FULKERSON, W.J.; NANDRA, K.S. 2004. Effect of time of feeding carbohydrate supplements and pasture on production of dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 85: 275-285.
93. VALENTINE, J.; CHARLES, A.H. 1979. The association of dry-matter yield with nitrogen and soluble-carbohydrate concentration in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *J. Agric. Sci. Camb.* 93: 657-667.
94. VAN VUUREN, A.M.; KROL-KRAMER, F.; VAN DER LEE, R.A.; CORBIJN, H. 1992. Protein digestion and intestinal amino acids in dairy cows fed fresh *Lolium perenne* with different nitrogen contents. *J. Dairy Sci.* 75: 2215-2225.

95. VAN VUUREN, A.M.; VAN DER KOELEN, C.J.; VROONS-DE BRUIN, J. 1986. Influence of level and composition of concentrate supplements on rumen fermentation patterns of grazing dairy cows. *Neth. J. Agric. Sci.* 34: 457-467.
96. VÉRITÉ, R. ; JOURNET, M. 1970. Influence de la teneur en eau et de la déshydratation de l'herbe sur sa valeur alimentaire pour les vaches laitières. *Ann. Zootech.* 19: 255-268.
97. VOLENEC, J.J.; NELSON, C.J. 1984. Carbohydrate metabolism in leaf meristems of tall fescue. II. Relationship to leaf elongation rates modified by nitrogen fertilization. *Plant Physiol.* 74: 595-600.
98. WAITE, R. 1970. The structural carbohydrates and the *in vitro* digestibility of ryegrass and cocksfoot at two levels of nitrogenous fertilizer. *J. Agric. Sci. Camb.* 74: 457-462.
99. WAITE, R.; BOYD, J. 1953. The water-soluble carbohydrates of grasses. I – Changes occurring during the normal life-cycle. *J. Sci. Food Agric.* 4: 197-204.
100. WARDLAW, I.F. 1968. The control and pattern of movement of carbohydrates in plants. *Bot. Rev.* 34: 79-104.
101. WHITE, L. 1973. Carbohydrate reserves of grasses: a review. *J. Range Manage.* 26: 13-18.
102. WILMAN, D. 1965. The effect of nitrogenous fertilizer on the rate of growth of italian ryegrass. *J. Br. Grassl. Soc.* 20: 248-254.
103. WILMAN, D. 1970. The effect of nitrogenous fertilizer on the rate of growth of italian ryegrass. 2. Growth up to 10 weeks: dry-matter yield and digestibility. *J. Br. Grassl. Soc.* 25: 154-161.
104. WILMAN, D. 1975a. Nitrogen and italian ryegrass. 1. Growth up to 14 weeks: dry-matter yield and digestibility. *J. Br. Grassl. Soc.* 30: 141-147.
105. WILMAN, D. 1975b. Nitrogen and italian ryegrass. 2. Growth up to 14 weeks: nitrogen, phosphorus and potassium content and yield. *J. Br. Grassl. Soc.* 30: 243-249.
106. WILMAN, D. 1980. Early spring and late autumn response to applied nitrogen in four grasses. 1. Yield, number of tillers and chemical composition. *J. Agric. Sci. Camb.* 94: 425-442.
107. WILMAN, D.; ALTIMIMI, M.A.K. 1984. The *in vitro* digestibility and chemical composition of plant parts in white clover, red clover and lucerne during primary growth. *J. Sci. Food Agric.* 35: 133-138.
108. WILMAN, D.; DALY, M.; KOOCHKEI, A.; LWOGA, A.B. 1977. The effect of interval between harvests and nitrogen application on the proportion and digestibility of cell wall, cellulose, hemicellulose and lignin and on the proportion of lignified tissue in leaf cross-section in two perennial ryegrass varieties. *J. Agric. Sci. Camb.* 89: 53-63.
109. WILMAN, D.; KOOCHKEI, A.; LWOGA, A.B. 1976b. The effect of interval between harvests and nitrogen application on the proportion and yield of crop fractions and on the digestibility and digestible yield and nitrogen content and yield of two perennial ryegrass varieties in the second harvest year. *J. Agric. Sci. Camb.* 87: 59-74.
110. WILMAN, D.; OJUEDERIE, B.M.; ASARE, E.O. 1976a. Nitrogen and italian ryegrass. 3. Growth up to 14 weeks: yields, proportions, digestibilities and nitrogen contents of crop fractions, and tiller populations. *J. Br. Grassl. Soc.* 31: 73-79.

111. WILMAN, D.; WRIGHT, P.T. 1978a. Dry-matter content, leaf water potential and digestibility of three grasses in the early stages of regrowth after defoliation with and without applied nitrogen. *J. Agric. Sci. Camb.* 91: 365-380.
112. WILMAN, D.; WRIGHT, P.T. 1978b. The proportions of cell content, nitrogen, nitrate-nitrogen and water-soluble carbohydrate in three grasses in the early stages of regrowth after defoliation with and without applied nitrogen. *J. Agric. Sci. Camb.* 91: 381-394.
113. WILSON, J.R. 1982. Environmental and nutritional factors affecting herbage quality. In: *Nutritional limits to animal production from pastures*. Hacker, J.B. ed. Farnham, Royal, U.K., Commonwealth Agricultural Bureaux. pp. 111-131.
114. WULFES, R.; NYMAN, P.; KORNER, A. 1999. Modelling non-structural carbohydrates in forage grasses with weather data. *Agric. Syst.* 61: 1-16.
115. YOUNGBERG, H.W.; HOLT, D.A.; LECHTENBERG, V.L. 1972. Diurnal variation in nitrogenous constituents of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Agron. J.* 64: 288-291.