UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

EVALUACIÓN DEL AMBIENTE RUMINAL EN VACAS LECHERAS ALIMENTADAS A BASE DE UNA RACIÓN TOTALMENTE MEZCLADA Y FORRAJE FRESCO

Por

AMARAL Victoria
PIROTTO Eliana
PUIG María

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

MODALIDAD ensayo experimental

MONTEVIDEO
URUGUAY
2014

PAGINA DE APROBACIÓN

TESIS aprobada por:

Presidente de Mesa _____
Dra. Analía Pérez

Segundo Miembro (Tutor): _____
Ing. Agr. MSc. Alejandro Mendoza

Tercer Miembro: _____
Dr. Alejandro Britos

Co-tutor: _____
DMTV PhD. José Luis Repetto

Fecha: 30 de Octubre de 2014

Autores: _____
Br. María Victoria AMARAL ROSTAN

_____
Br. María Eliana PIROTTO MARTINEZ

_____
Br. María Anahir PUIG CAMACHO

AGRADECIMIENTOS

A nuestras familias y amigos por su incondicional apoyo durante toda la carrera universitaria.

Al Ing. Agr. Alejandro Mendoza y Dr. José L. Repetto por su tutoría y cotutoría.

A todos los integrantes del Departamento de Bovinos y Nutrición Animal de Facultad de Veterinaria, especialmente a Cecilia Cajarville, Analía Pérez, Alejandro Britos y Alicia Félix por ayudarnos en los trabajos de campo y laboratorio.

A los compañeros con los que compartimos el trabajo experimental y a todo el personal del Campo Experimental Nº 2 (Libertad) de la Facultad de Veterinaria, que facilitaron que nuestro trabajo se pudiera llevar adelante.

A todos aquellos, que apoyaron y fortalecieron nuestro crecimiento como futuros profesionales.

TABLA DE CONTENIDO

Páginas

3 È * , 1 $ ' ($ 3 5 2 % $ & , Ï 1 « II
$ * 5 $ ' (& , 0 , (1 7 2 6 « III
LISTA ' (& 8 $ ' 5 2 6 <) , * 8 5 $ 6 « V
1. 5 (6 8 0 (1 « 1
2. 6 8 0 0 $ 5 < « 2
3. INTRODUCCIÓ 1 « 3
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁ) , & $ « 5
4.1. SISTEMA DE PRODUCCIÓ 1 ' (/ (& + ((1 8 5 8 * 8 $ < « « « « « 5
4.2.AMBIENTE RUMINAL EN BOVINOS ALIMENTADOS CON PASTURAS
7 (0 3 / $ ' $ 6 ' ($ / 7 $ & $ / , ' $ ' « « « « « « « « « « « « « « « « « « 5
& D U D F W H U t V W L F D V G H O D P E L H Q W H H Q 5
4.2.2. Metabolismo de c D U E R K L G U D W R V \ S U R G X F F L y Q 7
4.2.3. Metabolismo del n L W U y J H Q R « « « « « « « « « « « « « « « « « « 8
4.2.4. 5 H J X O D F L y Q G H S + « 8
4.3.LAS RACIONES TOTALMENTE MEZCLADAS COMO ALIMENTO
3 $ 5 $ 9 $ & $ 6 / (& + (5 $ 6 « 9
4.4.EFECTO DE DIETAS QUE COMBINAN RTM-FORRAJE FRESCO
6 2 % 5 ((/ $ 0 % , (1 7 (5 8 0 , 1 $ / « « « « « « « « « « « « « « « « « « 10
5. HIPÓ 7 (6 , 6 « 11
6. 2 % - (7 , 9 2 6 « 12
6.1. 2 % - (7 , 9 2 * (1 (5 $ / « 12
6.2. OBJETIVOS ESPECÍ) , & 2 6 « 12
7. MATERIALES Y MÉ 7 2 ' 2 6 « 13
7.1. LOCALIZACIÓ 1 « 13
7.2. $ 1 , 0 $ / (6 « 13
7.3. ' , 6 (f 2 (; 3 (5 , 0 (1 7 $ / « 13
7.4. 7 5 $ 7 $ 0 , (1 7 2 6 « 13
7.5. ALIMENTACIÓ 1 < 0 $ 1 (- 2 « 13
7.6. ' (7 (5 0 , 1 $ & , 2 1 (6 « 15
7.6.1. pH « 15
7.6.2. & R Q F H Q W U D F L y Q G H D P R Q t D F R « « « « « « « « « 15
7.6.3. & R Q F H Q W U D F L y Q G H i F L G R V J U D V R V Y R C 15
7.7. ANALISIS ESTADÍ 6 7 , & 2 6 « 15
5 (6 8 / 7 $ ' 2 6 « 16
8.1. pH < $ 0 2 1 Ë $ & 2 « 16
8.2. ACIDOS GRASOS VOLÁ 7 , / (6 « 18
9. DISCUSIÓ 1 « 21
10. & 2 1 & / 8 6 , 2 1 (6 « 24
11. BIBLIOGRAFÍ $ « 25

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Páginas

Cuadro I. Composición (%MS) de la ración totalmente mezclada « « « « « 14
Cuadro II. Composición química de pasturas y RTM utilizadas « « « « « « 14
Cuadro III. Efecto de los diferentes tratamientos sobre el pH y la concentración de amoniaco en rumen « « « « « « « « « « « « 16
Cuadro IV. Concentración de ácidos grasos volátiles « « « « « « « « « « 19

Figura I. Dinámica de la variación de pH « « « « « « « « « « « « « « « « « 17
Figura II. Dinámica de la variación de concentración de amoníaco « « « « . 18
Figura III. Dinámica de las concentraciones totales de ácidos grasos volátiles « « « « « « « « « « « « « « « « «

1. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el ambiente ruminal de vacas lecheras alimentadas con una dieta base de ración totalmente mezclada (RTM) e inclusión de forraje fresco. El mismo se realizó en el Campo Experimental N°2 de Facultad de Veterinaria (Libertad, departamento de San José, Uruguay). El trabajo experimental constó de 3 periodos de 20 días cada uno, (10 días de adaptación y 10 días de mediciones). El mismo se basó en un diseño de cuadrado latino de 3x3 donde se utilizaron 9 vacas Holstein (572±76 kg PV) multíparas, con una producción en la lactancia anterior de más 6000 lts, fistuladas en rumen, alojadas en bretes individuales. Se evaluaron 3 tratamientos: T0: 24 horas de acceso a RTM, T4: 20 horas de acceso a RTM más 4 horas de forraje fresco y T8: 16 horas de acceso a RTM más 8 horas de forraje fresco. La pastura utilizada fue raigrás anual (Lolium multiflorum) que fue cortada diariamente y ofrecida a los animales sin restricción en la cantidad ofrecida (durante el período que correspondiera) lo mismo que la RTM. En el período de mediciones se recolectaron muestras de líquido ruminal de cada animal durante 24 horas consecutivas, a cada hora, para determinar las siguientes variables: pH, concentración de amoniaco (NH_3) y concentración de ácidos grasos volátiles (AGV). Los datos fueron analizados como medidas repetidas en el tiempo. Las dinámicas diarias de pH fueron similares para los tres tratamientos ya que no se detectó interacción tratamiento por hora, pero se observaron mayores valores de pH para T8 (6,53) respecto a T4 (6,41), no diferenciándose T0 (6,47) de ambos (P=0,0136). En la concentración de NH_3 se detectó una interacción tratamiento por hora, donde T8 presentó menores concentraciones que los demás tratamientos mientras tenía acceso al forraje fresco, pero fueron mayores cuando pasó a alimentarse con RTM. La concentración total de AGV disminuyó con una inclusión de forraje fresco de 8 horas por día, pero simultáneamente se detectó un aumento en la proporción de ácido butírico (C4). Se concluye que modificar el tiempo de acceso a un forraje fresco en vacas lecheras alimentadas con una dieta base de tipo RTM afectó su ambiente ruminal, detectándose un aumento del pH al pasar de 4 a 8 horas de acceso a forraje fresco, mayores concentraciones de NH_3 para aquellos animales alimentados exclusivamente con RTM y una disminución de la concentración de AGV con la inclusión de forraje fresco exceptuando el aumento en la proporción de C4.

2. SUMMARY

The purpose of this work was to assess the ruminal environment of dairy cows fed on a base diet of total mixed ration (TMR) and different levels of inclusion of fresh forage. The research took place in the Research Station N°2 of the College of Veterinary Medicine (Libertad, San Jose department, Uruguay). The research consisted of three periods of 20 days each, also divided in 10 days of adaptation and 10 days of measurements. The research was based on a 3x3 latin-square design using 9 multiparous Holstein cows (572±76 k BW) with a milk production of at least 6000 L in the previous lactation, rumen-fistulated and placed in individual stalls. Three treatments were evaluated: T0: 24 hours of access to TMR, T4: 20 hours of access to TMR plus 4 hours of access to fresh forage, and T8: 16 hours of access to TMR plus 8 hours of access to fresh forage. Pasture used was annual ryegrass (Lolium multiflorum) which was cut daily and given to cattle with no restriction in the offered amount (during the corresponding time of day), the same as TMR. During the measurement term, samples of ruminal liquid were taken for 24 consecutive hours from each animal every hour to determine the following variables: pH, concentration of ammonia (NH_3) and concentration of volatile fatty acids (VFA). Data was analyzed according to a model of repeated measurements in time. Results indicated that daily dynamics of pH were similar for the three treatments, as no interaction treatment per hour was detected. However, higher pH values were obtained for T8 compared with T4, with T0 being no different from them. There was an interaction treatment per hour detected in the concentration of NH_3, in which T8 had lower concentrations than the other treatments while having access to fresh forage, but concentrations increased when switching to TMR. The total concentration of VFA decreased with an inclusion of fresh forage of more than 8 hours a day, and there was a simultaneous increase in the proportion of butyric acid. Therefore, it is concluded that the alteration in the access time to a fresh forage of cows fed on a TMR based-diet affected his environment ruminal, an increase of the pH being detected on having happened from 4 to 8 hours of access to fresh forage, major concentrations of NH3 for those animals fed exclusively on RTM and a decrease of AGV's concentration on the incorporation of fresh forage exempting the increase in the proportion of C4.

3. INTRODUCCIÓN

La producción de leche en Uruguay se ha basado tradicionalmente en el pastoreo directo de gramíneas y leguminosas forrajeras, asociado al uso de suplementos como concentrados y/o forrajes conservados en los momentos de déficit de forraje (Mendoza y col., 2011). En los últimos años la producción lechera ha debido sostener una fuerte competencia con otros rubros por el recurso suelo, principalmente con la agricultura de secano, que ha llevado a una reducción en el área dedicada a la lechería, que disminuyó de 980.000 ha en 2003 a 818.000 en 2012 (DIEA, 2013). Esta situación sugiere que, como forma de mantener su competitividad, la estrategia de producción de los predios lecheros debería pasar por una intensificación del uso de los recursos disponibles, que permita un aumento de la producción por unidad de superficie, manteniendo controlados los costos por unidad de producto.

En países del hemisferio norte se usan sistemas de confinamiento con alimentación en base a dietas RTM, que son aquellas en las que los concentrados, forrajes y aditivos se suministran de forma conjunta en una mezcla homogénea. Con este tipo de dieta, cada bocado de alimento que consume la vaca contiene la cantidad correcta de ingredientes para una alimentación balanceada, permitiendo a la vaca consumir lo más cercano a sus requerimientos de energía y mantener las características necesarias para la función adecuada del rumen. Esto produce un ambiente ruminal más estable y permitiría una digestión de los nutrientes más eficiente (Lammers y col, 2002).

En nuestro país se podría considerar la combinación de dietas de tipo RTM como dieta base con la adición de pasturas de alta calidad, de forma de aprovechar este recurso y al mismo tiempo poder explotar el potencial de producción de los animales (Mendoza y col., 2011). Complementar un sistema de alimentación en base RTM con pasturas de alta calidad (que generalmente tienen un costo relativo menor al de los suplementos) podría mejorar el rendimiento de las vacas lecheras a través de cambios en el consumo, la digestión y fermentación ruminal (Mendoza y col, 2011), habida cuenta que los procesos que ocurren en dicho órgano definen en gran medida el aporte de nutrientes para el animal (Van Soest, 1994).

En este sentido cuando los rumiantes consumen pasturas templadas de alta calidad, están ingiriendo grandes cantidades de nitrógeno debido a que la proteína aportada por esta pastura es altamente soluble y de muy rápida degradación, dando como resultado altas concentraciones instantáneas de nitrógeno amoniacal ($N\text{-}NH_3$) a nivel ruminal (Repetto y Cajarville, 2009; Cajarville y Repetto, 2005). Así mismo el aporte de cantidades de fibra altamente degradable que contiene dicha pastura, lleva a que cuando los animales la consumen se produzcan altas cantidades de AGV, los cuales son responsables en última instancia de la disminución del pH ruminal (Cajarville y Repetto, 2005). Además, dado que la principal fuente de proteína para los rumiantes es la proteína microbiana, es necesaria para su obtención una correcta combinación de nutrientes no solo nitrogenados sino también energéticos (Stern y col., 1994).

Es por eso que se podría esperar que la combinación de dietas RTM y pasturas conduzca a un mayor aprovechamiento del $N\text{-}NH_3$ generado a nivel ruminal, al ser

usado en combinación con carbohidratos rápidamente fermentescibles (aportados por la RTM) para la síntesis de proteína microbiana. Sin embargo, si bien a nivel mundial diferentes autores entre ellos Bargo y col. (2002), Soder y col. (2013) y Vibart y col. (2010) y a nivel nacional Santana (2012), han realizado trabajos experimentales donde han utilizado la combinación de dietas base RTM con la inclusión de pasturas de alta calidad evaluando el impacto de estas sobre el ambiente ruminal, es escasa la información existente respecto a la combinación de RTM y pasturas en la dieta de vacas lecheras y su impacto sobre las características del ambiente ruminal.

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1. SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE LECHE EN URUGUAY.

La producción de leche en Uruguay corresponde a un sistema pecuario de base pastoril, donde la curva de producción láctea acompaña la producción estacional de las pasturas siendo su mayor punto de producción de leche en primavera. Dichos sistemas presentan un desbalance estructural entre oferta y demanda de nutrientes el cual se busca corregir con suplementación estratégica mediante el uso de alimentos concentrados y reservas forrajeras (Meikle y col., 2013).

Actualmente cerca del 50% de la superficie dedicada a la lechería cuenta con pasturas mejoradas, lo que permite obtener costos medios de producción por litro de leche que se ubican entre los más bajos del mundo. La producción se realiza en grandes espacios abiertos y en equilibrio con el medio ambiente. Está prohibido el uso de hormonas o cualquier otro tipo de promotores, lo que permite asegurar el carácter natural del producto obtenido (Plan Agropecuario, 2002).

La alimentación de vacas lecheras de alta producción en base a pasturas templadas de alta calidad tiene como limitantes que la calidad y la cantidad ofertada no es constante en el correr del año, existiendo en los meses de menor temperatura una disminución del forraje producido y hacia el verano una disminución en la calidad nutricional. Por lo tanto los productores se ven enfrentados a la necesidad de suplementar a los animales para que puedan cubrir sus requerimientos a lo largo del año y que expresen su mayor potencial genético (Mendoza y col., 2011).

Otra limitante existente bajo estas condiciones es la disminución que puede producirse en el consumo de materia seca (MS) debido al mayor gasto energético necesario para la búsqueda y cosecha del alimento. De esta manera las vacas presentan dificultades para expresar su máximo potencial genético llevando a una menor producción de leche y a la variación en sus componentes, producido por el desacople entre los requerimientos y la oferta de nutrientes, lo que puede afectar tanto el desempeño productivo como reproductivo de los animales (Meikle y col., 2013).

4.2 AMBIENTE RUMINAL EN BOVINOS ALIMENTADOS CON PASTURAS TEMPLADAS DE ALTA CALIDAD.

4.2.1 Características del ambiente ruminal

Los rumiantes poseen el beneficio de tener una cámara fermentativa pre-gástrica llamada pre-estómagos (Retículo, Rumen y Omaso), donde se realiza la mayor parte de la digestión de los alimentos debido a la fermentación microbiana producida por la actividad metabólica de los microorganismos (m.o.) presentes en el rumen (Van Lier y Regueiro, 2008). Los alimentos que el animal ingiere proporcionan un aporte constante de sustratos y la gran capacidad del rumen aporta el volumen necesario y el tiempo de retención para que los componentes de la dieta (celulosa, polisacáridos) sean

degradados y fermentados por la población de m.o. allí presentes. Por lo tanto para que dichos procesos se lleven a cabo deben darse condiciones fisiológicas óptimas que se caracterizan por un medio con baja concentración de oxígeno, próximo a la anaerobiosis, temperatura entre 38-42°C, un pH entre 6-7, una mezcla gaseosa de 65% de CO_2, 27% de CH_4, 7% de N_2, 0,6 de O_2, 0,2% de H_2 y 0,01% de H_2S, una osmolaridad entre 260-340 mOsm (Church,1993), una concentración de AGV de 75-90 mM/ml con una relación acético/propiónico de 3,5/1y una concentración de NH_3 de 5-8 mg/dl (Cajarville y Repetto, 2005).

Las pasturas templadas, mezcla de gramíneas y leguminosas, son alimentos de alta calidad. Este tipo de pasturas tienen como características principales una elevada digestibilidad y un alto contenido de proteína, la cual es muy degradable en el rumen y de forma rápida, dando altas concentraciones de N-NH3 (6-30 mg/dl). Como consecuencia, cuando los animales pastorean estas praderas, sobre todo en estados de floración y pre-floración, el nitrógeno en el rumen es suficiente como para promover una elevada producción microbiana y por lo tanto el aporte de proteínas al rumiante (Repetto y Cajarville, 2009). La alta degradación de la fibra lleva a que se produzcan una elevada cantidad de AGV en el rumen (95-130 mmol/ml) llevando así a niveles de pH más bajos (5,9-6,2) (Cajarville y Repetto, 2005; Repetto y Cajarville, 2009).

En el rumen ingresan continuamente alimentos y sustancias tampones y egresan ácidos generados en la fermentación y residuos no digestibles manteniendo condiciones de pH, temperatura y humedad, entre otras, en los rangos fisiológicos. La población microbiana presente en el rumen es la encargada de la fermentación del alimento ingerido. Como productos finales de la fermentación de los componentes de la dieta encontramos a los AGV, NH3, CH4 y CO2.

La población microbiana responsable de la fermentación está compuesta por bacterias (10^{10}-10^{11} cél/gr de liq. ruminal), en sus mayorías anaerobias obligadas y facultativas, protozoarios (10^5-10^6 cél/ml de liq. ruminal), hongos (10^3-10^5 zoosporas/ml), arqueas (10^7-10^9 cél/gr de contenido ruminal) y bacteriófagos ($5x10^7$ fagos/ml de liq. ruminal) (Church, 1993). Existe varias forma de clasificación de las bacterias ruminales una de ellas es según el tipo de sustrato que utilizan y los productos finales de la fermentación, según este método se reconocen 8 grupos distintos de bacterias ruminales: 1) celulolíticas, que fermentan la celulosa y producen AGV, principalmente ácido acético, 2) amilolíticas, que fermentan el almidón, produciendo AGV, principalmente ácido propiónico, 3) sacarolíticas, que fermentan la sacarosa, produciendo AGV, principalmente ácido butírico, 4) lactolíticas, que fermentan el ácido láctico y producen AGV, principalmente ácido propiónico, 5) lipolíticas, que hidrolizan las grasas y producen AG libres, 6) proteolíticas, que fermentan las proteínas y producen NH_3 y aminoácidos, 7) metanógenas, que producen metano (no son exactamente bacterias, sino que forman parte del grupo de las arqueas) y 8) ureolíticas que hidrolizan la urea a CO_2 y NH_3 (Kaufmann y Saelzer,1997).

A pesar de que la población bacteriana comparte el mismo hábitat, los distintos grupos que la componen requieren diferentes condiciones para alcanzar su desarrollo óptimo. Esto se refiere principalmente a las condiciones de pH, donde las bacterias amilolíticas

son activas a un pH entre 5,5-6, en tanto que las bacterias celulolíticas son activas a un pH más alto entre 6-7. Por lo tanto una dieta rica en concentrado (almidón) requerirá para su fermentación de bacterias amilolíticas, en tanto una dieta rica en fibra (celulosa) necesitara de bacterias celulolíticas (Kaufmann y Saelzer, 1980).

4.2.2 Metabolismo de los carbohidratos y producción de ácidos grasos volátiles

Los carbohidratos constituyen la fracción principal de la dieta de los rumiantes. En los procesos de fermentación ruminal los carbohidratos son utilizados por la población microbiana como fuente de energía, contribuyendo al mismo tiempo con sus cadenas carbonadas a la síntesis de los aminoácidos de origen bacteriano. Los principales productos finales de la fermentación ruminal de las carbohidratos lo constituyen los AGV (propiónico, acético y butírico) (Kaufmann y Saelzer, 1980).

Los carbohidratos con importancia nutritiva se clasifican en: 1) monosacáridos y oligosacáridos, que su presencia en el rumen puede provenir ya sea directamente del alimento ingerido (principalmente de pastos verdes) o de la hidrolisis de polisacáridos durante el proceso de la fermentación ruminal; un aumento de estos en la dieta produce un incremento en la concentración relativa de ácido butírico y 2) polisacáridos estructurales (celulosa, hemicelulosa y pectina) y no estructurales (almidón y azucares) (Church, 1993).

Los polisacáridos estructurales representan la mayor parte de las membranas de las células vegetales, donde la celulosa y hemicelulosa se encuentra ligado a la lignina que si bien éste último no es un carbohidrato, sino una sustancia fenólica, forma parte de la pared celular de los vegetales, impidiendo el acceso de los m.o. a la celulosa y hemicelulosa y por tanto su fermentación. En cambio la pectina es altamente soluble y de rápida fermentación ruminal, aunque su contenido en la pared celular desciende notablemente a medida que la planta envejece y se produce de forma simultánea un aumento en el contenido de celulosa y lignina. Como producto final del desdoblamiento de los polisacáridos estructurales se obtiene una alta producción de ácido acético y una cantidad reducida de ácido propiónico y butírico (Church, 1993).

Los polisacáridos no estructurales provienen principalmente de dietas ricas en concentrados, y fermentan de forma rápida y casi en su totalidad, ya que una fracción del almidón pasa al intestino en forma by pass. Un incremento de estos carbohidratos en el alimento genera un aumento en la densidad de energía del mismo la cual puede ser utilizada y traducida en una mayor síntesis de proteína bacteriana. Como producto final de la fermentación de estos carbohidratos se produce un aumento en la cantidad de ácido propiónico y cierto incremento del ácido butírico (Church, 1993).

Un correcto equilibrio entre carbohidratos estructurales y no estructurales se considera importante en vacas lecheras para lograr una producción de leche eficiente (Van Lier y Regueiro, 2008).

Los AGV, producto final de la fermentación ruminal, son absorbidos en retículo, rumen y omaso llegando muy poca cantidad al abomaso. La mayoría del acetato y propionato

llegan sin modificarse al hígado por la circulación portal, donde el acetato escapa a la oxidación y pasa a la circulación periférica y el propionato es transformado en glucosa; así mismo una pequeña cantidad de ambos es absorbida por la pared del rumen donde el acetato se convierte en cuerpos cetónicos y el propionato en ácido láctico. La producción de niveles adecuados de acetato en rumen resulta esencial para mantener cantidades adecuadas de grasa en la leche. El butirato se metaboliza en la pared del rumen transformándose en ß ±hidroxibutirato (cuerpo cetónico) muy importante como fuente de energía para el epitelio ruminal. El beneficio para los rumiantes está en la energía que aportan los AGV, ya que proporcionan el 70-80% de las necesidades calóricas totales del animal hospedador (Church, 1993).

4.2.3. Metabolismo del nitrógeno

Los rumiantes tienen la capacidad única de producir sin disponer de una fuente de proteína dietética debido a la síntesis de proteína microbiana en el interior del rumen (Church, 1993). Las proteínas del alimento que llegan al rumen son desdobladas a aminoácidos, los cuales pueden ser utilizados como tal o ser desaminados en AGV, CO_2 y NH_3. En condiciones normales una pequeña porción de amoníaco llega a la sangre y por vía porta al hígado donde es transformado en urea (evitando su acción tóxica). Este proceso es eficiente siempre y cuando la cantidad de NH_3 absorbida no sobrepase la capacidad del hígado de transformarlo en urea. La urea sintetizada pasa a la circulación y llega al rumen por dos vías, con la saliva y mediante difusión a través de la pared del rumen. Esto constituye un mecanismo de reciclaje de nitrógeno en casos de bajos niveles de proteína en la dieta (Van Lier y Regueiro 2008).

La cantidad de proteína metabolizable que llega al duodeno está dada por la suma de la proteína microbiana sintetizada en el rumen, la proteína alimenticia no degradada y el nitrógeno endógeno. Los nutrientes necesarios para el crecimiento de los m.o. responsables de la síntesis de proteína microbiana son fuentes de nitrógeno (aportadas por: proteína de la dieta, nitrógeno no proteico y nitrógeno reciclado) y energía (en forma de esqueletos carbonados y ATP) los cuales son digeridos para proporcionar N-NH3 y aminoácidos. Por tanto es importante tener en cuenta la cantidad de proteína microbiana producida ya que además de representar la fuente más abundante de proteína que llega al duodeno presenta una excelente calidad debido al perfil de aminoácidos que suministra (Stern y col, 1994).

4.2.4. Regulación del pH

El tipo de hidrato de carbono predominante en la dieta condiciona el desarrollo del tipo de población microbiana adecuada para su fermentación y el rango óptimo de pH (Relling y Mattioli, 2003).

El pH ruminal está regulado en gran parte por la rumia la cual está condicionada por las características físicas y químicas del alimento. La estructura física del alimento, principalmente forrajes fibrosos, estimulan la rumia e influencian el tiempo de la misma aumentándolo, produciéndose grandes cantidades de saliva la cual contiene bicarbonato (HCO_3) y fosfatos (generando un pH alcalino entre 8,2-8,4) que actúan en el rumen

como tampón frente a la producción de los ácidos, lo que lleva a un alto pH (6-7) en rumen favoreciendo la digestión de la celulosa. En cambio los alimentos concentrados generan un corto tiempo de rumia con baja producción de salida, porque tienen como propiedad química una velocidad de fermentación elevada, y una producción más intensa de AGV, lo que lleva a una disminución del pH (5,5-6) lo que favorece la digestión del almidón (Relling y Mattioli, 2003).

Según Dijkstra y col. (2012) existe una relación inversa entre las concentraciones de AGV y pH luego de la ingesta, ya que cuando aumentan los AGV y disminuye el pH, dicha relación podría estar condicionada por el almacenamiento de soluciones buffer y la utilización de las mismas para la neutralización de los ácidos en rumen, y con ello obtener un pH neutro a nivel ruminal. Esto marca una gran diferencia con la actividad que existe en el intestino ya que este último no cuenta con la presencia de sustancias buffer, existiendo así un pH ácido.

4.3. LAS RACIONES TOTALMENTE MEZCLADAS COMO ALIMENTO PARA VACAS LECHERAS.

Las RTM son una forma de alimentación donde los forrajes y alimentos concentrados son completamente mezclados, y de esta forma son ofrecidos a los animales (Mendoza y col, 2011). La RTM fue diseñada originalmente para la época del año en el cual el pastoreo es difícil de efectuar. La suplementación con praderas en sistemas de producción de leche basados en praderas RTM, podría mejorar el comportamiento productivo de los animales por medio de cambios en la digestión ruminal y fermentación de los alimentos (Bargo y col, 2002).

El uso de RTM tiene como ventajas: a) maximizar el consumo individual, ya que se trata de una ración balanceada y con una relación forraje-concentrado adecuada, b) por lo general disminuyen los problemas metabólicos y digestivos, c) la producción de leche puede aumentar hasta en 5% con RTM, en comparación con las raciones tradicionales, d) la correcta mezcla de los alimentos disminuye el sabor desagradable de ciertos componentes de la dieta (Lammers y col., 2002).

Existen ciertas desventajas en el uso de RTM: a) se requiere maquinaria para mezclar y administrar la ración, b) es esencial pesar el alimento con exactitud, lo cual podría involucrar costos y mantenimiento adicionales, c) se debe tener cuidado al formular y mezclar la ración, ya que si la dieta no está balanceada o mezclada correctamente, la vaca tendrá un menor rendimiento, d) se requiere de instalaciones para alimentar a los animales, tratar los efluentes generados y conservar el alimento (Lammers y col., 2002).

4.4. EFECTO DE DIETAS QUE COMBINAN RTM-FORRAJE FRESCO SOBRE EL AMBIENTE RUMINAL.

Existen pocos antecedentes sobre el estudio de dietas mixtas de RTM y pasturas frescas y su impacto sobre el ambiente ruminal en bovinos y ovinos. Bargo y col. (2002) realizaron un estudio que se basó en alimentar a vacas con diferentes dietas: 1) Pastura suplementada con concentrados (PC), 2) Pastura suplementada con RTM (RTMP) y 3) solo RTM. Las vacas alimentadas con PC tuvieron mayores niveles de NH3 ruminal, pero no hubieron diferencias en el pH o en la concentración de AGV. Las vacas alimentadas con RTMP tuvieron menor concentración de urea en plasma y leche con respecto a las alimentadas con PC, lo que sugiere una mayor utilización del nitrógeno. Los animales que consumían RTM y RTMP obtuvieron un mayor consumo de MS, mayor producción de leche, mayor producción de grasa en leche y porcentajes de proteína verdadera que las vacas alimentadas con PC.

Soder y col. (2013) usaron un sistema in vitro para evaluar las siguientes dietas sobre la digestibilidad de los nutrientes, el perfil fermentativo y la síntesis de N bacteriano: 100% de pastura de Dactylis glomerata (DG), 100% de RTM, y 50% DG más 50% de RTM. Se observó que la dieta 100%RTM redujo significativamente la digestibilidad de FND en comparación con la dieta 100%DG, mientras que las concentraciones totales de AGV, y las proporciones molares de acetato, propionato e isovalerato, así como la relación acetato:propionato fueron más altas en las dietas 100%RTM en comparación con 100%DG. En general, las distintas dietas no afectaron el metabolismo del N.

Vibart y col. (2010) realizaron un experimento con el fin de examinar el efecto de distintas mezclas de pastura (raigrás anual) y RTM sobre el perfil fermentativo ruminal usando una técnica in vitro. Las dietas estudiadas fueron: 1) 100% RTM, 2) 85:15 RTM: pastura, 3) 70:30 RTM: pastura y 4) 55:45 RTM: pastura. Se observó que la concentración total de AGV tendió a crecer linealmente a medida que aumentó la proporción de pastura en las dietas, y dentro de los AGV, el acético y el propiónico disminuyeron y el butírico aumentó linealmente a mayor proporción de pastura en la dieta. Los valores de pH y amoníaco no fueron afectados por las dietas, mientras que la síntesis de metano disminuyó a mayor proporción de pastura en la dieta.

A nivel nacional Santana (2012) realizó un experimento con vaquillonas que fueron sometidas a 3 dietas: 1) Solo RTM, 2) Solo pastura templada y 3) 18 horas de acceso a RTM más 6 horas de acceso a la pastura. Se observó que el consumo de MS y materia orgánica (MO) fue menor para el tratamiento solo pastura respecto a la combinación RTM y Pastura, y no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos solo RTM y RTM + Pastura. No se detectaron diferencias en la digestibilidad de la MS y MO entre tratamientos, sin embargo la digestibilidad de la FDA y FDN fue mayor para el tratamiento solo pastura respecto a los demás. Los valores de pH fueron mayores en el tratamiento solo pastura respecto a los demás, pero las concentraciones medias de N-NH_3 no difirieron entre los distintos tratamientos.

5. HIPÓTESIS

Vacas lecheras alimentadas con una dieta base RTM con distintos tiempos de acceso a forraje fresco presentarán:

- Un menor pH ruminal con mayor consumo de forraje fresco.
- Una concentración de NH_3 mayor en los tratamientos con acceso a forraje fresco.
- Una similar concentración de AGV tanto en los tratamientos con acceso a forraje fresco que en el tratamiento solo RTM.

6. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar cómo la inclusión de pasturas sobre una dieta base RTM, afecta el ambiente ruminal.

6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estudiar si la inclusión de pasturas sobre una dieta base RTM modifica la variación diaria del pH ruminal.

Estudiar si la inclusión de pasturas sobre una dieta base RTM afecta la variación diaria de la concentración ruminal de amoníaco.

Estudiar si la inclusión de pasturas sobre una dieta base RTM afecta la variación diaria de la concentración ruminal de ácidos grasos volátiles.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. LOCALIZACIÓN

El trabajo de campo se realizó en el Campo Experimental N°2 de Facultad de Veterinaria en Libertad, departamento de San José, de en la Unidad de Digestión y Metabolismo Ruminal de los Departamentos de Bovinos y Nutrición, y el análisis de muestras se realizó en el Departamento de Nutrición.

7.2. ANIMALES

Se utilizaron 9 vacas multíparas de raza Holstein con fístulas ruminales con un peso vivo de entre 550 y 600 kg que al inicio del experimento tenían entre 50 a 100 días de lactancia, y una producción en la lactancia anterior de más de 6000 litros.

7.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño del experimento consistió en un cuadrado latino 3 x 3 replicado 3 veces. Los animales se agruparon en 3 cuadrados según su PV, producción al inicio del experimento y en la lactancia previa, y dentro de cada cuadrado se asignaron al azar a los tratamientos. Cada período tuvo una duración de 20 días, los primeros 10 días de adaptación a la dieta y los 10 restantes correspondieron a período de mediciones).

7.4. TRATAMIENTOS

Los tratamientos que se evaluaron fueron:

- T0: RTM sin restricción en la cantidad de alimento por 24 horas ad libitum.
- T4: RTM por 20 horas más adición de forraje fresco por 4 horas sin restricción en la cantidad de alimento.
- T8: RTM por 16 horas más adición de forraje fresco por 8 horas sin restricción en la cantidad de alimento.

7.5. ALIMENTACIÓN Y MANEJO

Durante el experimento los animales consumieron una RTM compuesta por: ensilaje de maíz planta entera, grano de maíz seco partido, harina de soja, núcleo vitamínico-mineral, elaborada según las normas de alimentación de ganado lechero de EE.UU. (NRC 2001), para satisfacer los requerimientos de vacas de 600 kg produciendo 35 L/día (Cuadro I). La pastura utilizada fue un Raigrás anual (Lolium multiflorum), cultivar LE 284 (Cuadro II).

Cuadro I. Ingredientes (base seca) de la ración totalmente mezclada

	Porcentaje
Ensilaje de maíz (planta entera)	45,2
Grano de maíz	31,6
Harina de soja	21,3
Bicarbonato de sodio	0,6
Fosfato dicálcico	0,4
Urea	0,3
Carbonato de calcio	0,2
Cloruro de sodio	0,2
Oxido de magnesio	0,2
Premezcla de vitaminas y minerales traza[1]	0,04
Secuestrante de micotoxinas[2]	0,04
Monensina[3]	0,01

[1]Rovimix® Lecheras, DSM Nutritional Products Ltd. Basilea, Suiza.
[2]Mycofix® Plus, Biomin Innovative Animal Nutrition GmbH, Gerzoemburg, Austria.
[3]Rumensin® 100 Premix, Elanco Animal Health, Greenfield, EEUU.

Los animales fueron alojados individualmente en bretes, teniendo libre acceso al agua, y se le suministró RTM y Pastura durante el tiempo determinado descrito anteriormente para cada tratamiento. Se llevaron a ordeñar dos veces por día (07:30 y 19:00 h) y luego volvían a sus respectivos bretes individuales donde seguían con los tratamientos asignados.

Cuadro II. Composición química de la ración totalmente mezclada y pastura utilizadas

	Alimentos	
%	**RTM**	**Pastura**
MS	35,8	15,3
PB*	16,1	17,1
FDN*	40,3	47,1
FDA*	22,9	26,5

MS: Materia seca; PB: proteína cruda; FDN: fibra detergente neutro; FDA: fibra detergente ácido.
* En base seca.

La pastura fue cortada diariamente a las 08:00 horas, a 10 cm de altura desde el suelo con un segador de disco y suministrada en un lapso de 24 horas. La RTM se confeccionó diariamente a partir de las 08:00 horas para luego ser proporcionada en las siguientes 24 horas. A partir de las 09:00 horas de cada día se comenzó a ofrecer los alimentos de acuerdo a los tratamientos correspondientes, en donde primero se suministró la pastura y luego la RTM.

Una vez que el comedero tenía un remanente cercano al 10% se procedía a la reposición del mismo, de acuerdo al tratamiento que presentaba. Una vez finalizado el plazo estipulado de alimentación con pastura para cada tratamiento, se procedía a

retirar y pesar la que aún permanecía en el comedero, con el objetivo de calcular el rechazo de alimento de cada animal.

7.6. DETERMINACIONES

El penúltimo día de cada período de mediciones se tomaron muestras de líquido ruminal de cada animal, durante 12 y 24 horas consecutivas, a cada hora (total de muestras obtenidas=648), para realizar las determinaciones que se describen a continuación:

7.6.1. pH

Se midió mediante un pH-metro digital inmediatamente de extraída la muestra.

7.6.2. Concentración de amoníaco

Una submuestra de 10 ml de cada muestra se conservó en tubos de ensayo conteniendo 0,2 ml de ácido sulfúrico al 50% (vol/vol) y fueron cubiertos con parafilm. Cada tubo fue congelado a -20°C. Se determinó la concentración de $N\text{-}NH_3$ mediante destilación directa de la muestra (Preston, 1995).
Las muestras se tomaron durante 24 horas consecutivas, a cada hora (n=648).

7.6.3. Concentración de ácidos grasos volátiles

Una submuestra de 0,5 ml de cada muestra se conservó con 0,5 ml de ácido perclórico 0,1 M, y luego fue congelada a -20°C. Se determinó la concentración de ácido acético (C2), propiónico (C3) y butírico (C4) usando un equipo HPLC (UltImate 3000, Dionex Corporation, Sunnyvale, USA), según la técnica descrita por Adams y col (1984).
Las muestras se tomaron cada 12 horas consecutivas, a cada hora (n=324).

7.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Las variables se analizaron con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System, versión 9.1), como medidas repetidas en el tiempo. Se usó un modelo lineal mixto, que incluyó como efecto fijo el tratamiento y como efecto aleatorio al cuadrado, período y vaca dentro del cuadrado. Las medias se separaron por medio del test de Tukey, usando un nivel de significancia de $P < 0,05$, y de tendencia de $P < 0,10$.

8. RESULTADOS

8.1. pH y amoníaco.

En el cuadro III se presentan los valores diarios medios de pH y concentración de amoníaco obtenidos para los diferentes tratamientos.

Cuadro III. Efecto del tiempo de acceso a forraje fresco sobre el pH y la concentración de amoníaco en rumen

		Efecto, P>F
	T0	

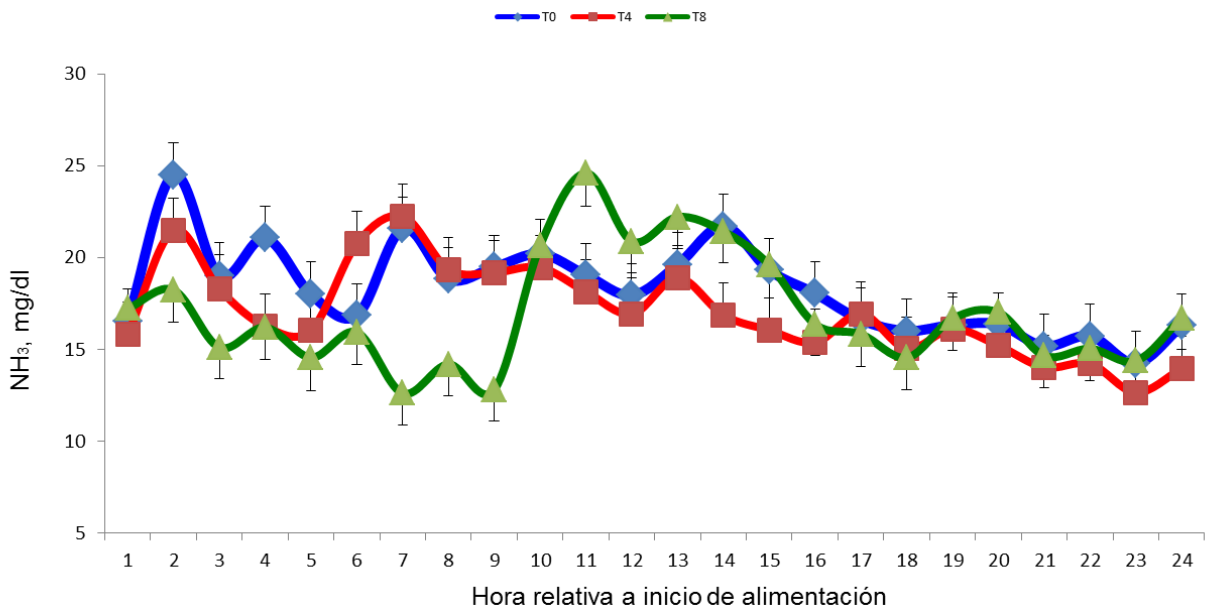

Figura II. Dinámica de las concentraciones de amoníaco ruminal de vacas lecheras alimentadas a base de RTM e inclusión de forraje fresco. T0: RTM, T4: RTM+4 horas forraje fresco, T8: RTM+8 horas forraje fresco. Las barras verticales indican el error estándar de cada media.

8.2. Ácidos grasos volátiles

En el cuadro IV se presentan los resultados de concentración de AGV según el tratamiento. La concentración absoluta de C2 fue afectada por el tratamiento (P=0,0228), siendo mayor en T0 y T4 respecto a T8. También fue afectada por la hora (P ª0,10) que tendió a aumentar a lo largo de la sesión de medición, pasando de 62,2 a 75,1 mM entre la hora 0 y 12, respectivamente. Pero la concentración absoluta de C2 no se vio afectada por la interacción tratamiento por hora (P «0,05).

Al igual que C2 las concentraciones de C3 y C4 fueron afectadas por los tratamientos (P<0,05 en ambos casos) y por la hora (P<0,001 en ambos casos). Tanto para C3 como C4, la mayor concentración absoluta se observó en T4 respecto a T0 y T8, que no se diferenciaron entre sí. Para ambas variables la concentración aumentó entre las horas 0 y 12, desde 23,7 a 30,1 mM en el caso de C3, y desde 15,1 a 23,0 mM en el caso de C4.

Con respecto a la concentración absoluta del total de AGV, la misma fue afectada por el tratamiento (P=0,0154) y hora (P=0,001), pero no hubo interacción tratamiento por hora (P>0,05), observándose un comportamiento similar de las 3 variables durante todo el período de medición. Con respecto a la hora, se observó un aumento en la concentración total de AGV entre la hora 0 y 12, pasando de 100,9 a 128,3 mM (Figura III).

Cuadro IV. Efecto del tiempo de acceso a forraje fresco sobre la concentración promedio de AGV expresadas en valor absoluto (mM) y frecuencia relativa respecto al total (%).

	T0	T4	T8	EEM	Efecto, P>F		
					T	Hora	T x Hora
C2, mM	73,8 [a]	74,5 [a]	64,9 [b]	3,3	0,0228	0,0968	0,7124
C3, mM	23,5 [b]	27,8 [a]	23,0 [b]	1,7	0,0333	<0,001	0,3264
C4, mM	17,7 [b]	21,0 [a]	17,6 [b]	1,3	0,0210	<0,001	0,5474
Total, mM	117,9 [a]	123,2 [a]	105,6 [b]	5,8	0,0154	0,001	0,5131
C2, %	63,0	60,7	61,9	0,9	0,1465	<0,001	0,4930
C3, %	22,6	22,7	21,9	0,8	0,7163	<0,001	0,8087
C4, %	14,3 [b]	16,7 [a]	16,2 [a]	0,6	0,0212	0,0171	0,6484

T0: RTM0 por 24 horas; T4: acceso a pastura por 4 horas más RTM por 20 horas; T8: acceso a pastura por 8 horas más RTM por 16 horas. T: efecto de tratamiento; EEM: error estándar de la media. C2: ácido acético; C3: ácido propiónico; C4: ácido butírico.
n=324.

Cuando las concentraciones se expresaron como porcentaje, se observó que para las de C2 y C3 no existió efecto tratamiento ni interacción tratamiento por hora (P>0,05), pero sí de la hora (P<0,001 en ambos casos). En el caso de C2, la concentración relativa disminuyó entre la hora 0 y 12, de 62,1 a 58,7%. Mientras, la concentración relativa de C3 disminuyó entre la hora 0 y 6, de 23,4 a 20,0%, para luego incrementarse hasta 23,3% a la hora 12.

Por otra parte, la concentración relativa de C4 fue afectada por el tratamiento (P=0,0212) y la hora (P=0,0171), aunque no existió interacción tratamiento por hora (P>0,05). La concentración relativa de C4 aumentó de la hora 0 a 4 pasando de 15,11% a 18,46%, a la hora 6 disminuyó a 16,19% para luego aumentar a 23,24% a la hora 10.

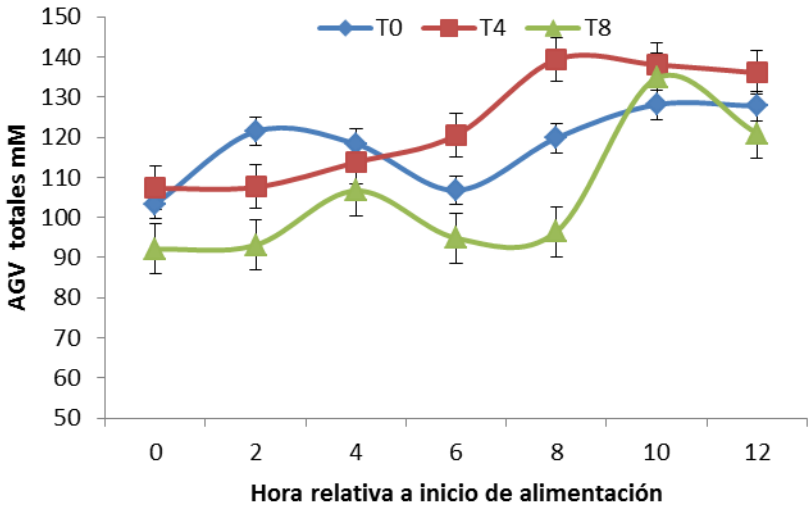

Figura III. Dinámica de las concentraciones totales de AGV en el rumen de vacas alimentadas con RTM y forraje fresco. T0: RTM, T4: RTM+4 horas forraje fresco, T8: RTM+8 horas forraje fresco. Las barras verticales indican el error estándar de cada media.

9. DISCUSIÓN

Es sabido que la composición físico-química de la dieta y el nivel de consumo afectan directamente al ambiente ruminal (Church, 1993). En este experimento, Duvos y col. (2013) estudiaron el consumo de MS y CNF, y observaron que existió un mayor consumo de MS para T4 respecto a T8, pero no se encontró diferencia con T0. De igual forma se comportó el consumo de CNF, que fue menor para T8 respecto a los demás tratamientos. Esta diferencia en el consumo de MS y CNF se habría reflejado en el pH ruminal, donde T8 presentó valores de pH más tendientes a la neutralidad que T4.

Santana (2012) obtuvo resultados similares a los del presente trabajo; trabajando con vaquillonas cruza, y reportó un mayor consumo de MS en los tratamientos que combinaban RTM y 6 horas de acceso a una pastura mezcla de gramíneas y leguminosas templadas en comparación con los tratamientos 100% pastura o 100% RTM, y observó un pH mayor en el tratamiento que incluía mayor cantidad de pastura en la dieta.

En un trabajo realizado por Vibart y col. (2010) se evaluaron 4 dietas por métodos de fermentación ruminal in vitro: 1) 100% RTM, 2) 85:15 RTM:pastura, 3) 70:30 RTM:pastura y 4) 55:45 RTM:pastura, y no observaron diferencias en el pH obtenido en sistemas de cultivo continuo entre los distintos tratamientos.

Bargo y col. (2002) evaluaron 3 dietas: 1) RTM, 2) pastura (mezcla de gramíneas templadas) + RTM, 3) pastura + concentrado, y reportaron una disminución en el pH ruminal con un aumento de forraje fresco en la dieta. Las características de alta fermentescibilidad de las pasturas de alta calidad, y por lo tanto, de alta producción de AGV, pueden promover ambientes ruminales que se caracterizan por valores de pH relativamente bajos (Repetto y Cajarville, 2009). Es posible que la ausencia de diferencias entre tratamientos se haya debido a la baja proporción de pastura en la dieta ya que no superó un 20% de la misma en base seca en T8 que fue el tratamiento con mayor acceso a forraje fresco (Duvos y col., 2013).

Hay que señalar que los pH registrados se encuentran dentro de los rangos fisiológicos para bovinos (6-7), ya que estos variaron de 6,41 a 6,53 según los distintos tratamientos, lo que habría asegurado una buena digestión de la fibra de acuerdo a Van Soest (1994) y Grant y Mertens (1992).

Los valores de NH_3 que registraron en este estudio fueron más bajos para T4 y T8 respecto a aquellos animales que tuvieron acceso solo a RTM. Lo esperable era que a mayor proporción de forraje fresco en la dieta, mayor fuera la concentración ruminal de NH_3. Trabajos realizados en nuestro país por Cajarville y Repetto (2006) con bovinos pastoreando praderas de gramíneas y leguminosas mostraron que las concentraciones ruminales de NH_3 alcanzaron un valor promedio de 20,1 mg/dl, producto del alto nivel de proteína bruta y su alta degradabilidad en este tipo de forrajes. Por ejemplo, Bargo y col. (2002), reportaron que la concentración de NH_3 ruminal fue menor en los tratamientos RTM y pastura+RTM respecto a pastura + concentrado.

Estos resultados podrían explicarse por el menor consumo de MS en T4 y T8 respecto a T0, ya que cuando a las vacas de T8 se les ofrecía forraje fresco, dedicaron una baja proporción de tiempo a alimentarse y lo hicieron a una baja tasa de consumo (Colla y col., 2013). Es decir, la baja contribución de pastura en la dieta de T8 no habría sido suficiente para que se observaran cambios en la concentración ruminal de NH3.

Además, un ingrediente de la RTM era harina de soja, que si bien se considera una de las mejores fuentes de proteínas para la alimentación animal (McDonald y col., 2006), tiene un contenido de proteína degradable en rumen de un 65% (Stern y col., 1994). En este experimento el mayor valor de NH_3 que se obtuvo de los animales que consumían 100% RTM podría explicarse por la importante proporción de harina de soja (21,3%) en la RTM, que podría haber resultado en una importante generación de NH_3, parte del cual no habría sido usado por los m.o. ruminales para la síntesis de proteína microbiana.

Es interesante señalar que Duvos y col (2013), usando información generada en este experimento, reportaron que si bien no hubo diferencias en la concentración promedio de urea en suero, en algunas horas fue menor dicha concentración en T8 respecto a T0 o T4. Esto refleja la menor concentración promedio de NH_3 en rumen para T8, asociado al menor consumo de proteína bruta en dicho tratamiento (Duvos y col, 2013), y coincide con lo señalado por Gustaffson y Palmquist (1993), quienes estudiaron la variación diurna de NH_3 ruminal y urea sérica en vacas lecheras y observaron una estrecha relación entre ambas variables.

De forma opuesta a lo visto en nuestro experimento, Santana (2012) en el trabajo con vaquillonas ya reportado, observó que las concentraciones medias de NH_3 no difirieron estadísticamente entre los distintos tratamientos: a) RTM, b) pastura y c) RTM + pastura, atribuyendo dichos resultados a la alta degradabilidad de los componentes nitrogenados de las pastura templada y a una mayor absorción a nivel ruminal de N-NH_3 en el tratamiento pastura.

En cualquier caso, hay que destacar que las concentraciones de NH_3 en el presente experimento se encontraron por encima de los valores mínimos que aseguran una óptima síntesis de proteína microbiana (5-8 mg/dl) (Van Soest, 1994; Kaufmann y Saelzer, 1980).

En el presente trabajo, la menor concentración absoluta de AGV totales (105,6 mmol/l total), y de los AGV individuales en T8 que sugiere una menor producción de AGV, podría haberse debido a que en este tratamiento se observó un menor consumo de MS y/o CNF respecto a T0 (117,9 mmol/l total) y T4 (123,2 mmol/l total), y por lo tanto tuvo una menor cantidad de sustratos capaces de fermentar en rumen y producir AGV (Van Soest, 1994). Según Colla y col. (2013) trabajando en el mismo experimento que nosotros, el menor consumo de MS en T8 habría estado asociado al alto porcentaje de humedad de las pasturas templadas, que podría limitar la capacidad física del animal de alcanzar una mayor ingesta de alimento; justamente, el tratamiento T8 fue el que tuvo el mayor consumo de pastura respecto a T0 y T4.

A su vez, la mayor proporción de C4 en T4 y T8 podrían atribuirse al alto contenido de azúcares solubles presentes en las pasturas templadas (Antúnez y Caramelli, 2009) y la hora de corte, que podría haber orientado los procesos ruminales hacia una IHUPHQWDFLyQ PiV ³EXWtULFD´ (VWR KD VLGR UHSRUWDGR de azúcar (utilizada como fuente de energía suplementaria en raciones formadas por alimentos groseros o incluso como componente principal de algunas raciones), donde Karalazos y Swan (1997), en un experimento realizado en ovinos, remplazaron grano de cebada por melaza en la dieta de los animales, obteniendo como resultado un aumento del C4 directamente proporcional a la adición de melaza.

Bargo y col. (2002), a diferencia del presente experimento, no detectaron diferencias en la concentración total de AGV entre tratamientos (137,5 mmol/ l en promedio), ni en las proporciones de cada AGV.

Los valores obtenidos de concentración total de AGV están dentro de lo esperable para vacas lecheras, donde en principio de lactancia alimentadas con una RTM con una relación 50:50 forraje concentrado, Dann y col (1999) informaron una concentración total de AGV de 129 mmol /L. Del mismo modo, los valores de frecuencia relativa de los distintos AGV también se encuentran dentro de lo normal para bovinos según Noziere y col. (2011), autores que resumieron información del ambiente ruminal de bovinos a partir de distintos experimentos, y reportaron un promedio 63,1, 21,4 y 11,5% para C2, C3 y C4 (respectivamente), siendo en este experimento el promedio de 61,9, 22,4 y 15,7% para estos AGV.

10. CONCLUSIONES

Si bien no hubo diferencia en pH ruminal entre animales alimentados solo con RTM o con 4 horas de acceso a un forraje fresco, se detectó un aumento del mismo al pasar de 4 a 8 horas de acceso, probablemente debido al menor consumo de MS y CNF de los animales en este último tratamiento.

Sin embargo, los animales que consumieron una dieta con 100% de RTM presentaron mayores concentraciones de NH_3 en rumen que los demás, probablemente debido a que la harina de soja presente en la RTM, tenía una alta degradabilidad.

Finalmente, la concentración total de AGV disminuyó con la inclusión de forraje fresco, debido al menor consumo de MS y CNF, pero se detectó un aumento en la proporción de C4, probablemente asociado al alto contenido de azucares solubles presentes en las pasturas templadas.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adams, R.F., Jones, R.L., Conway, P.L. (1984). High-performance liquid chromatography of acid metabolites. Journal of Chromatography, 336:125-137.
2. Antúnez, M., Caramelli, A. (2009). Variación en la composición química y producción de gas in vitro de pasturas de acuerdo al horario de corte. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. 43 p.
3. Bargo F, Muller LD, Varga GA, Delahoy JE, Cassidy TW. (2002). Ruminal digestion and fermentation of high-producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. J Dairy Sci 85: 2964 ± 2973.
4. Cajarville C, Repetto J. (2005). Uso de concentrados para optimizar el aprovechamiento digestivo de las pasturas. XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay, pp: 121-128.
5. Church CD, (1993): El Rumiante: Fisiología digestiva y nutrición. Zaragoza, Acribia, 641p.
6. Colla, R., Gaudenti, G., Martin, M. E. (2013). Efectos de la inclusión de una pastura templada de alta calidad en sistemas de alimentación a base de ración totalmente mezclada sobre el consumo, la tasa de consumo y el comportamiento en vacas lecheras. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. Uruguay. 28 p.
7. Dann, HM., Varga, GA., Putman, DE. (1999). Improving energy supply to late-gestation and early-postpartum dairy cows. J. Dairy Sci. 82:1765-1778.
8. DIEA. Dirección de Estadísticas Agropecuarias. (2013). Anuario estadístico agropecuario. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Uruguay. 45p.
9. Dijkstra J., Ellis JL., Kebreab E., Strathe AB., López S., France J., Bannink A. (2012). Ruminal pH regulation and nutritional consequences of low pH. Anim. Feed Sci. Technol. 172: 22-33.
10. Duvos, M., Iriarte, A., Machiavello, N. (2013). Consumo de nutrientes y perfil metabólico y hormonal en vacas lecheras consumiendo una ración totalmente mezclada con distintas horas de acceso a una pastura templada. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay. 34 p.
11. Grant, R.J., Mertens, D.R. (1992). Influence of buffer ph and raw corn starch addition on in vitro fiber digestion kinetics. J. Dairy Sci. 75: 2762-2768.
12. Gustaffson, AH., Palmquist, DL. (1993). Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at high and low yields. J Dairy Sci 76: 475-484.
13. Karalazos, A. and Swan, H. (1997). The nutritional value for sheep of molasses and condensed molasses solubles. Anim. Feed Sci. Technol. 2: 143-152.
14. Kaufmann W., Saelzer V. (1980). Fisiología digestiva aplicada al ganado vacuno. Zaragoza, Acribia. 85p.
15. Lammers BP. (2002).Uso de ración total mezclada (TMR) para vacas lecheras. Departamento de Ciencias Animales, Universidad Estatal de Pensilvania. Disponible en: http://www.das.psu.edu/teamdairy/. Fecha de consulta: 2/12/13.
16. McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A. (2006). Nutrición Animal. Digestión, 6a ed. Zaragoza, Acribia, p. 135-165.

17. Meikle A., Cavestany D., Carriquiry M., Adrien Ma. L., Artegoitia V., Pereira I., Ruprechter G., Pessina P., Rama G., Fernandez A., Breijo M., Laborde D., Pritsch O., Ramos JM., de Torres E., Niccolini P., Mendoza A., Dutour J., Fajardo M., Astessiano AL., Olazábal L., Mattiauda D., Chilibroste P. (2013). Avances en el conocimiento de la vaca lechera durante el período de transición en Uruguay: un enfoque multidisciplinario. Agrociencia (Uruguay) 17: 141-152.
18. Mendoza A, Cajaville C, Santana A, Repetto J. (2011). ¿Hacia una nueva forma de pensar las alimentación de las vacas lecheras? La inserción del confinamiento en los sistemas pastoriles de producción de leche. XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp: 82-90.
19. Noziére, P. Glasser, F. and Sauvant, D. (2011). In vivo production and molar percentages of volatile fatty acids in the rumen: A quantitative review by an empirical approach. Animal 5: 403-414.
20. NRC. National Research Council. (2001). Nutrient requirements of dairy cattle. 7ª, Washington; National Academy, 381p.
21. Plan Agropecuario. Revista Del Plan Agropecuario Nº101: 24-25, 2002.
22. Relling AE. Mattioli GA. (2003). Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. La Plata, editorial, 72 p.
23. Repetto, JL., Cajarville, C. (2009). ¿Es posible considerar lograr la sincronización de nutrientes en sistemas pastoriles intensivos? XXXVII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp: 60-67.
24. Santana A. (2012). Inclusión de pastura templada en una dieta completamente mezclada en vaquillonas: efectos sobre el consumo, el aprovechamiento digestivo y metabólico. Tesis de Maestría en Nutrición de Rumiantes. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. Uruguay. 36p.
25. Soder KJ., Brito AF., Rubano MD. (2013). Effect of supplementing orchardgrass herbage with a total mixed ration or flaxseed on fermentation profile and bacterian protein synthesis in continuous culture. J Dairy Sci; 96: 3228-3237.
26. Stern M.S., Calsamiglia S., Endres M.I. (1994). Dinámica del metabolismo de los hidratos de carbono y del nitrógeno en el rumen. Universidad de Minnesota, EE.UU. X Curso de especialización de la Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA). Disponible en: http://www.fundacionfedna.org/publicaciones. Fecha de consulta: 5/6/14
27. Udén P., Sjaunja L.O. (2009). Estimating volatile fatty acid concentrations in rumen samples by Fourier transform mid-IR transmission spectroscopy. Anim. Feed Sci. Technol. 152: 123 ±132.
28. Van Lier E., Regueiro M. (2008). Digestión en Retículo-Rumen. Facultad de Agronomía. Montevideo, Uruguay. Departamento de Producción Animal y Pasturas. 30 p.
29. Van Soest, P.J. (1994). Microbes in the gut. En Van Soest, PJ, Nutritional Ecology of the Ruminant, 2a ed. New York: Cornell University Press. pp: 253-280.
30. Vibart, R.E., Burns, J.C., Fellner, V. (2010). Effect of replacing total mixed ration with pasture on ruminal fermentation. Prof. Anim. Sci. 26: 435 ±442.